

ISSN1840-2887Штампа-Print
ISSN 2303-4475 Online

Veterinary Journal of Republic of Srpska



ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije March 2013, Vol. 87, No. 3, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije April 2013, Vol. 87, No. 4, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije May 2013, Vol. 87, No. 5, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije June 2013, Vol. 87, No. 6, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije July 2013, Vol. 87, No. 7, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN
ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije August 2013, Vol. 87, No. 8, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije September 2013, Vol. 87, No. 9, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije October 2013, Vol. 87, No. 10, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije November 2013, Vol. 87, No. 11, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije December 2013, Vol. 87, No. 12, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN
ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije January 2014, Vol. 88, No. 1, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije February 2014, Vol. 88, No. 2, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije March 2014, Vol. 88, No. 3, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije April 2014, Vol. 88, No. 4, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN	ISSN 0013-788X ВЕТЕРИНАРНЫЙ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКИ СРБИЈЕ Veternarski list Republike Srbije May 2014, Vol. 88, No. 5, 1-100 pages, 1000 BGN, 1000 BGN

Фото: 15 последњих бројева журнала – Foto: 15 latest issue of the journal

UDK 619 (05)

ISSN 1840-2887 – Штампа-Print

ISSN 2303-4475 - Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

VETERINARY JOURNAL OF REPUBLIC OF SRPSKA

Научни часопис - Scientific journal

Ветеринарски журнал Републике Српске, Вол. 18, број 1, стр. 1-265, Бања Лука, 2018
Veterinary Journal of Republic of Srpska, Vol. XVIII, No 1, page 1-265, Banja Luka, 2018

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:

Др Милан Балтић, Milan Baltić, PhD, (Србија-Srbija)
Др Бојан Голић, Bojan Golić, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Нектариос Д. Гиادينис, Nektarios D. Giadinis (Грчка, Greece)
Др Слободан Дојчиновић, Slobodan Dojčinovi, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Жељко Цветић, Željko Cvetnić, PhD, (Хрватска-Croatia)
Др Нихад Феџић, Nihad Fejzić, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Весна Калаба, Vesna Kalaba, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Неђељко Карабасил, Nedjeljko Karabasil, PhD, (Србија-Srbija)
Др Драган Касагић, Dragan Kasagić PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Миломир Ковач, Milomir Kovač, PhD, (Руска Федерација, Російская Федерација)
Др Зора Мијачевић, Zora Mijačević, PhD, (Србија-Srbija)
Др Биљана Пећанац, Biljana Pećanac, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Виолета Сантрач, Violeta Santrač, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Жељко Сладојевић, Željko Sladojević, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Владо Теодоровић, Vlado Teodorović, PhD, (Србија-Srbija)
Др Милан Тешић, Milan Tešić, PhD, (Србија-Srbija)
Др Родољуб Тркуља, Rodoljub Trkulja, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Миленко Шарић, Milenko Šarić, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS).

ЛЕКТОР - LECTOR: Александра Савић, Aleksandra Savić

Преводац на енглески – Проф. Нивес Јаковљевић

Translator in English: Prof. Nives Jakovljević

РЕЦЕНЗИЈА:

Часопис се упућује на двоструку 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 технологије Републике Српске часопис је ослобођен пореза на промет.

Штампа: Comesgrafika, Бања Лука

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

Тел: 051/229-210, E-mail: drago.nedic@virs-vb.com, <http://virs-vb.com>

Обим и политика часописа

Ветеринарски журнал Републике Српске је покренут 2001. године како би истраживачи и стручњаци код нас и у региону и широм свијета могли да објављују своја истраживања и радове. Часопис је посвећен унапређењу и ширењу научних сазнања о ветеринарским наукама и сродним академским дисциплинама. Ветеринарски журнал Републике Српске је отвореног приступа, рецензирани научни часопис ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске "Др Васо Бутозан" Бања Лука, Република Српска/БиХ, посвећен објављивању оригиналних научних радова, прегледних радова, мини прегледних радова, кратких комуникација, стручно-техничких извјештаја, приказ случаја и писма уреднику. Ветеринарски журнал Републике Српске објављује се на српском језику и енглеском језику, у годишњим волуменима који се састоје од два броја, на моделу *Open Access* који омогућава високу видљивост радова. Ветеринарски журнал Републике Српске је индексиран као национални часопис. Сваки рукопис биће обрађен од стране два рецензента који пружају квалитетну уредничку обраду. Упутства за пријављивање рукописа, припрему рада, процедуру рецензије и све остале детаље доступна су на страницама часописа. Ова страница ће ауторе упутити корак по корак кроз процес пријављивање (Упутство за ауторе). Ветеринарски журнал Републике Српске је часопис отвореног приступа. Сви радови могу се бесплатно преузети и користити у складу са *Creative Commons Attribution 4.0 International License*(CC BY 4.0).

Scope and Policy of the Journal

Veterinary Journal of Republic of Srpska was launched in 2001 to offer researchers and professionals in the region and worldwide a place to publish their research findings and work. The Journal is devoted to the advancement and dissemination of scientific knowledge concerning veterinary sciences and related academic disciplines. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is an open access, peer-reviewed scientific journal published by the PI VETERINARY INSTITUTE REPUBLIC OF SRPSKA „Dr. Vaso Butozan“ BANJA LUKA, Republic of Srpska/B&H, and dedicated to the publication of full research papers, reviews articles, mini review articles, short communications, technical reports, case reports and letters to the Editor. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is published in Serbian and English, in yearly volumes comprising two issues, on an Open Access model which allows high visibility of articles. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is indexed as a national journal. Each manuscript will be handled by two reviewers providing quality editorial processing. The instructions for manuscript submission, paper preparing, peer-review procedure and all other details are available on the Journal homepage. This site will guide Authors stepwise through the submission process (Author Guidelines). *Veterinary Journal of Republic of Srpska* is an Open Access Journal. All articles can be downloaded free of charge and used in accordance with the *Creative Commons Attribution 4.0 International License*(CC BY 4.0).

САДРЖАЈ / CONTENTS

1. **Бојан Голић, Драго Недић, Слободан Дојчиновић**
КАПАЦИТЕТИ АКРЕДИТОВАНИХ ИСПИТНИХ ЛАБОРАТОРИЈА ЗА
ХРАНУ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ У 2017. ГОДИНИ У ОДНОСУ НА
ПОДРУЧЈА АКРЕДИТАЦИЈЕ
Bojan Golić, Drago Nedić, Slobodan Dojčinović
CAPACITY OF ACCREDITED TESTING LABORATORIES FOR FOOD IN
BOSNIA AND HERZEGOVINA IN 2017 IN RELATION TO THE FIELDS
OF ACCREDITATION 4
2. **Душан Бошњаковић, Александра Петровић, Оливера Валчић,
Иван Јовановић, Светлана Милановић**
УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ ТЕМПЕРАТУРА СКЛАДИШТЕЊА НА
АКТИВНОСТ ГЛУТАТИОН ПЕРОКСИДАЗА ЕРИТРОЦИТА И ПЛАЗМЕ
ОВАЦА
**Dušan Bošnjaković, Aleksandra Petrović, Olivera Valčić, Ivan Jovanović,
Svetlana Milanović**
THE EFFECTS OF DIFFERENT STORING TEMPERATURES ON THE
ACTIVITY OF SHEEP BLOOD AND PLASMA
GLUTATHIONE PEROXIDASE 38
3. **Marinko Vekić, Mirjana Mitraković, Đorđe Savić**
УТИЦАЈ МАСЕ РАСПЛОДНИХ ЈАЈА РОДИТЕЛЈСКОГ ЈАТА ТЕШКОГ
ЛИНИЈСКОГ ХИБРИДА НА РЕЗУЛТАТЕ ИНКУБАЦИЈЕ
Marinko Vekić, Mirjana Mitraković, Đorđe Savić
INFLUENCE OF WEIGHT OF MEAT-TYPE HYBRID HATCHING
EGGS ON INCUBATION RESULTS 54
4. **Nataša Glamočlija, Marija Starčević, Jelena Ćirić, Dragan Šefer, Milica
Glišić, Milan Ž. Baltić, Radmila Marković, Marija Spasić, Đorđe Glamočlija**
ЗНАЧАЈ ТРИТИКАЛЕА У ИШРАНИ ЖИВОТИНЈА
**Nataša Glamočlija, Marija Starčević, Jelena Ćirić, Dragan Šefer, Milica
Glišić, Milan Ž. Baltić, Radmila Marković, Marija Spasić, Đorđe Glamočlija**
THE IMPORTANCE OF TRITICALE IN ANIMAL NUTRITION 73
5. **Бојан Голић, Драго Недић, Слободан Дојчиновић**
КАПАЦИТЕТИ АКРЕДИТОВАНИХ ИСПИТНИХ ДИЈАГНОСТИЧКИХ
ВЕТЕРИНАРСКИХ ЛАБОРАТОРИЈА У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ У
2017. ГОДИНИ, СА СТАНОВИШТА ДИЈАГНОСТИЧКИХ ИСПИТИВАЊА
У ВЕТЕРИНАРСТВУ, У ОДНОСУ НА ПОДРУЧЈА АКРЕДИТАЦИЈЕ
Bojan Golić, Drago Nedić, Slobodan Dojčinović
CAPACITY OF ACCREDITED DIAGNOSTIC TESTING VETERINARY
LABORATORIES IN BOSNIA AND HERZEGOVINA IN 2017, FROM THE
STANDPOINT OF DIAGNOSTIC TESTS IN VETERINARY MEDICINE, IN
RELATION TO FIELDS OF ACCREDITATION 95

6. Branko Marković, Drago Nedić, Savo Minić ICT SISTEMI ZA PRAĆENJE I ZAŠTITU DIVLJIH ŽIVOTINJA U NJIHOVOM PRIRODNOM OKRUŽENJU Branko Marković, Drago Nedić, Savo Minić ICT SYSTEMS FOR MONITORING AND PROTECTION OF WILDLIFE IN THEIR NATURAL ENVIRONMENT	132
7. Ljiljana Janković, Radislava Teodorović, Milutin Đorđević, Marijana Vučinić, Katarina Nenadović SPROVOĐENJE MERA DEZINFEKCIJE, DEZINSEKCIJE I DERATIZACIJE U KLANICAMA Ljiljana Janković, Radislava Teodorović, Milutin Đorđević, Marijana Vučinić, Katarina Nenadović APPLICATION OF MEASURES OF DISINFECTON, DISINSECTON AND RODENT CONTROL IN SLAUGHTERHOUSES	182
8. Tijana Ledina, Snežana Bulajić, Jasna Đorđević METODE ZA ODREĐIVANJE ANTIMIKROBNE REZISTENCIJE KOD MIKROORGANIZAMA U HRANI Tijana Ledina, Snežana Bulajić, Jasna Đorđević METHODS FOR THE ANTIBIOTIC RESISTANCE DETECTION IN MICROORGANISMS ISOLATED FROM FOOD	207
9. Marijana Vučinić, Katarina Nenadović, Dunja Kovač, Ljiljana Janković ZAŠTO VETERINARI TREBA DA POZNAJU PONAŠANJE ŽIVOTINJA Marijana Vučinić, Katarina Nenadović, Dunja Kovač, Ljiljana Janković WHY VETERINARIANS SHOULD UNDERSTAND ANIMAL BEHAVIOR	225
10. Milutin Đorđević, Branislav Pešić, Brana Radenković Damnjanović. Ljiljana Janković, Radislava Teodorović, Dragana Despot ANALIZA EFEKATA SPROVEDE DEZINFEKCIJE POVRŠINA I OPREME U RAZLIČITIM PROIZVODNIM CELINAMA NA FAZANERIJI PRIMENOM RASTVORA NA BAZI PERSIRČETNE KISELINE I FORMALDEHIDA Milutin Đorđević, Branislav Pešić, Brana Radenković Damnjanović, Ljiljana Janković, Radislava Teodorović, Dragana Despot ANALYSIS OF THE EFFECTS OF DISINFECTION OF THE SURFACES AND EQUIPMENT IN DIFFERENT PRODUCTION UNITS ON A PHEASANT FARM BY THE APPLICATION OF PARACETIC ACID AND FORMALDEHYDE BASED SOLUTIONS	241
УПУТСТВО АУТОРИМА ЗА ПРИПРЕМАЊЕ РУКОПИСА INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	260

DOI: 10.7251/VETJ1801004G

UDK: 664.63(497.6)"2017"

Оригинални научни рад

КАПАЦИТЕТИ АКРЕДИТОВАНИХ ИСПИТНИХ ЛАБОРАТОРИЈА ЗА ХРАНУ У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ У 2017. ГОДИНИ У ОДНОСУ НА ПОДРУЧЈА АКРЕДИТАЦИЈЕ

Бојан ГОЛИЋ^{1*}, Драго НЕДИЋ¹, Слободан ДОЈЧИНОВИЋ¹

¹ Др Бојан Голић спец. др вет.; Проф. др Драго Недић, др вет.; Др Слободан Дојчиновић спец. др вет. Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бранка Радичевића 18, 78000 Бања Лука, Република Српска, БиХ

* Коресподентни аутор: Др Бојан Голић спец. др вет., bojan.golic@virs-vb.com

Кратак садржај: Акредитовање подразумеујева формално признање да је неко тијело за оцјењивање усаглашености (лабораторија) компетентно да спроводи активности оцјењивања усаглашености у складу са међународно прихваћеним правилима. Акредитовање тијела за оцјењивање усаглашености у Босни и Херцеговини (БиХ) спроводи Институт за акредитовање БиХ (БАТА). Акредитација лабораторија осигурава повјерење у резултате лабораторијских испитивања, а врши се према стандарду BAS EN ISO/IEC 17025:2006. Испитне лабораторије за храну у ширем смислу обухватају лабораторије које се баве испитивањем хране, хране за животиње, воде за пиће и брисева површина. Циљ испитивања је утврдити капацитете акредитованих испитних лабораторија за храну у БиХ у односу на области испитивања односно подручја акредитације. На овај начин добио би се јасан увид у спремност испитних лабораторија за храну да одговоре захтјевима са становишта контроле хране у циљу заштите здравља животиња и људи. Током 2017. године у БиХ укупно је било акредитовано 29 испитних лабораторија за храну, у Републици Српској 8, а у Федерацији БиХ 21 лабораторија. Од укупно 13 акредитованих подручја испитивања у БиХ, лабораторије у Републици Српској су акредитовале 10 (76,90%), а у Федерацији БиХ 13 подручја (100%). Када су у питању различите области испитивања хране, БиХ посједује капацитете у виду акредитованих лабораторија да одговори на ове захтјеве, а посебно су значајни капацитети за физичко-хемијска испитивања хране и воде и микробиолошка испитивања хране (преко 55% акредитованих лабораторија). Затим слиједе микробиолошка испитивања хране за животиње и воде и токсиколошко испитивање резидуа и контаминената у храни (преко 30% акредитованих лабораторија).

Кључне ријечи: акредитација, испитне лабораторије, храна.

УВОД

Акредитовање подразумеује формално признање да је неко тијело за оцјењивање усклађености компетентно да спроводи активности оцјењивања усаглашености у складу са међународно прихваћеним правилима (34). Оцјењивање усклађености је свака дјелатност преко које се непосредно или посредно утврђује да ли су испуњени релевантни захтјеви, а тијело за оцјењивање усклађености је од добављача независна лабораторија, тијело за сертификавање, инспекцијско тијело или неко друго тијело које учествује у процедури оцјењивања усклађености и које може бити државно тијело, правна или физичка особа. Акредитација је документ на основу којег се доказује компетентност за обављање одређених задатака у подручју оцјењивања усклађености. У току процедуре акредитовања утврђује се компетентност правних и физичких лица, која могу представљати у цјелости, или само једним својим дијелом, тијело за оцјењивање усклађености, у односу на захтјеве БиХ, европских и међународних стандарда, односно докумената европских и међународних организација за акредитацију.

Акредитовање тијела за оцјењивање усаглашености у Босни и Херцеговини (БиХ) спроводи Институт за акредитовање БиХ (БАТА) (35). БАТА је надлежна да развија, проводи и одржава Систем акредитовања БиХ (САБиХ), спроводи процедуру акредитовања и надзора тијела за оцјењивање усклађености,

заступа БиХ у европским и међународним организацијама за акредитовање, организује и спроводи специјалистичко образовање кадрова у подручју акредитовања, те развија и успоставља информациони систем о додијелим акредитацијама те о документима из подручја акредитовања.

БАТА утврђује критеријуме за одобравање и одржавање акредитације које морају испуњавати Тијела за оцјену усклађености (ТОУ), процес спровођења акредитовања, те финансирање система акредитовања (56). Акредитација лабораторија осигурава повјерење у резултате лабораторијских испитивања, а врши се према стандарду BAS EN ISO/IEC 17025 (1). У оквиру САБиХ, могу се акредитовати испитне лабораторије, калибрационе лабораторије, медицинске лабораторије, инспекцијска тијела, тијела која обављају сертификавање производа, тијела за сертификавање особља и тијела за сертификавање система управљања.

Испитне лабораторије за храну у ширем смислу обухватају лабораторије које се баве испитивањем хране, хране за животиње и воде за пиће. Такође, ове лабораторије спровode и испитивања у циљу оцјене микробиолошке чистоће опреме, уређаја, прибора, радне површине, радне одјеће и руку радника у производњи и промету у објектима и средствима превоза која долазе у контакт са храном, у којима постоји ризик од појаве и ширења заразне болести (42).

Испитне лабораторије за храну морају бити акредитоване у складу са стандардом BAS EN ISO/IEC 17025 (36–38, 42). Испитивање хране у БиХ обављају овлаштене лабораторије у државном (ДВ) и приватном власништву (ПВ), у оба ентитета, Републи-

ци Српској (РС) и Федерацији Босне и Херцеговине (ФБиХ), у складу са Законом о храни (36, 37) и другим подзаконским актима. У Брчко дистрикту (БД) није акредитована ниједна испитна лабораторија за храну.

ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСПИТИВАЊА

Циљ испитивања је утврдити капацитете акредитованих испитних лабораторија за храну у БиХ у односу на области испитивања односно подручја акредитације. На овај начин добио би

се јасан увид у спремност испитних лабораторија за храну да одговоре захтевима са становишта контроле хране у циљу заштите здравља животиња и људи.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Материјал

Као материјал за испитивање коришћени су Додаци акредитацији акредитованих испитних лабораторија у БиХ, преузети са веб-странице БАТА (57).

Лабораторије са територије РС:

I Државно власништво

1. Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бања Лука (5)
2. Јавна здравствена установа „Институт за јавно здравство“, Бања Лука (6)

II Приватно власништво

1. Ветеринарски завод „Теолаб“, Бијељина (7)
2. Славен д.о.о. Ветеринарски завод, Бања Лука (8)
3. Gross д.о.о. Градишка (9)
4. Институт за воде д.о.о., Бијељина (10)

5. „ЕУРО-ИНСПЕКТ“ д.о.о., Осјечани (11)

6. SISTEM QUALITA, S д.о.о., Пале (12)

Лабораторије са територије ФБиХ:

I Државно власништво

1. Јавна установа „Ветеринарски завод“ Бихаћ, Бихаћ (13)
2. Ветеринарски факултет Универзитета у Сарајеву, Сарајево (14)
3. Јавна установа „Ветеринарски завод Тузланског кантона“, Тузла (15)
4. Испитна лабораторија Јавна установа „РАД“ д.д., Тешањ (16)
5. Завод за јавно здравство Федерације Босне и Херцеговине (17)
- 6.

7. КЈП Ветеринарска станица д.о.о., Сарајево (18)
8. ЗУ Завод за јавно здравство УСК, Бихаћ (19)
9. Федерални завод за пољопривреду, Сарајево (20)
10. Завод за јавно здравство СБК/КСБ, Травник (21)
11. Завод за јавно здравство Тузланског кантона, Тузла (22)
12. Завод за јавно здравство Кантона Сарајево, Сарајево (23)
13. Федерални агромедитерански завод, Мостар (24)
14. Јавна установа Институт за здравље и сигурност хране Зеница (25)
15. Јавна установа Ветеринарски завод ХНК/Ж Мостар (26)
3. ПУ Институт за биомедицинску дијагностику и истраживање „ГЕНОМ“, Травник (29)
4. DVOKUT про д.о.о., Сарајево (30)
5. CONTROL-Н д.о.о., Мостар (31)
6. Pharmamed д.о.о., Травник (32)
7. HERKON д.о.о., Мостар (33)

Лабораторије су приказане према регистрованом називу и сједишту правног лица, без навођења њихових регионалних локација и организационих јединица које су акредитоване.

Методe

У нашем истраживању и у статистичкој анализи добијених резултата користили смо, као основне статистичке методе, дескриптивне статистичке параметре. Ови параметри омогућавају описивање добијених резултата и њихово тумачење. Резултати истраживања приказани су табеларно и графички. Статистичка анализа резултата урађена је у статистичком пакету Microsoft Office Excel.

II Приватно власништво

1. Загребинспект д.о.о., Мостар (27)
2. Агенција за водно подручје ријеке Саве, Сарајево (28)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У БиХ је укупно акредитовано 29 испитних лабораторија за храну (АЛХ), од чега у РС 8 (27,60%), а у ФБиХ 21 (72,40%), док у Брчко дистрикту (БД) не постоји ниједна АЛХ (Табела 1).

Однос АЛХ међу ентитетима (РС према ФБиХ) је 1:2,60. Овај однос је за 0,8 већи од односа броја становника између ентитета (РС:ФБиХ=1:1,8) (58).

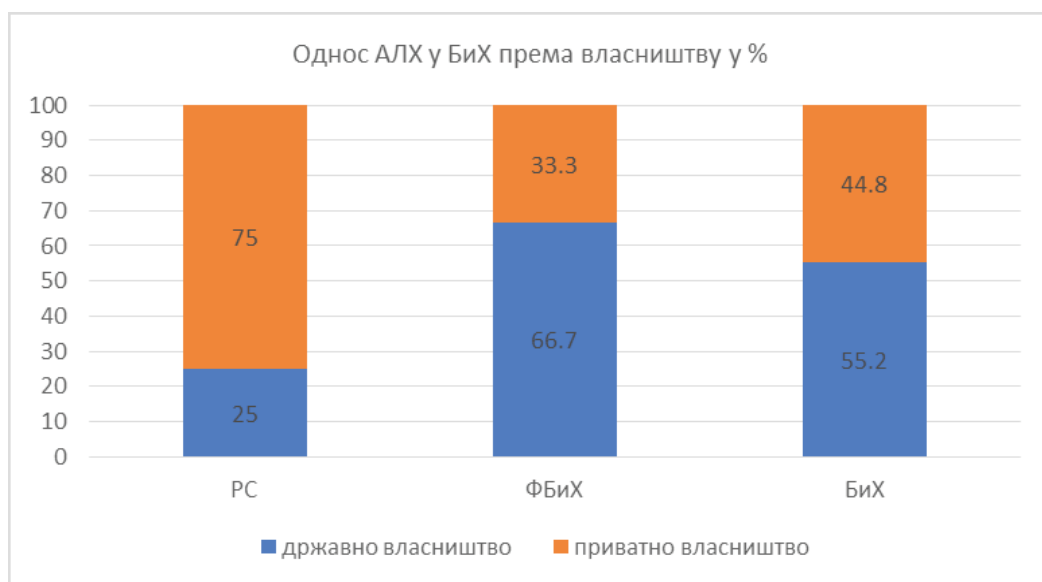
Табела 1. Акредитоване испитне лабораторије за храну у БиХ

Локација	Број АЛХ	%
РС	8	27,60
ФБиХ	21	72,40
БД	0	0
БиХ	29	100

У Табели 2. и Графикону 1. приказан је бројчани и процентуални однос АЛХ у БиХ према власништву.

Табела 2. Бројчани однос АЛХ у БиХ према власништву

Локација	Број	
	ДВ	ПВ
РС	2	6
ФБиХ	14	7
БиХ	16	13

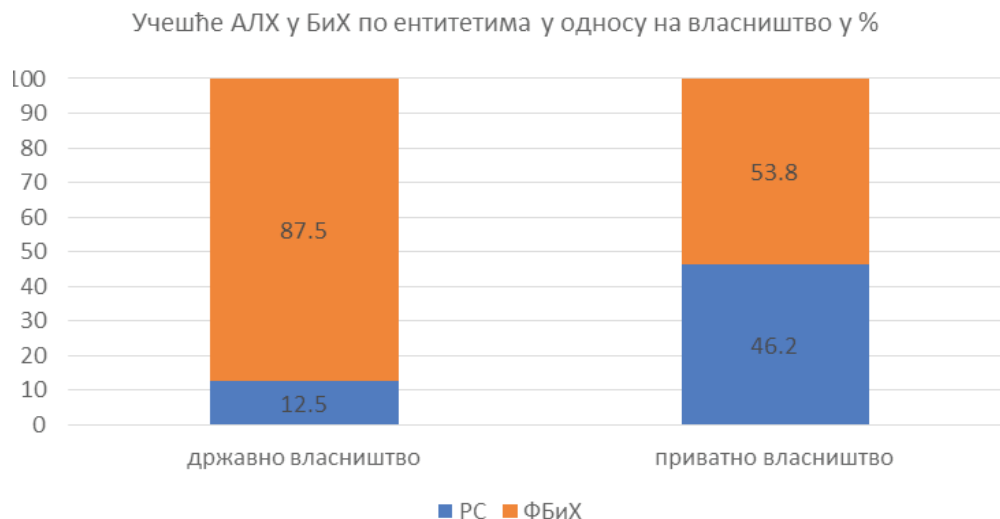


Графикон 1. Процентуални однос АЛХ у БиХ према власништву

У РС је 25% АЛХ у ДВ, наспрам 75% у ПВ (1:3). Овај однос је значајно другачији у ФБиХ, гдје је 66,70% АЛХ у ДВ, наспрам 33,30% у ПВ (2:1). На нивоу БиХ однос АЛХ, када је у питању државно и приватно власништво, подједнак је (1,20:1). На основу ових података може се закључити да се у ФБиХ послови тј. лабораторијска испитивања контроле безбједности хране, а који

су од јавног интереса за здравље људи, обављају већински у АЛХ у ДВ. Супротно овоме, РС се, поред сопствених (државних), веома значајних лабораторијских капацитета, већински ослања на лабораторије у ПВ.

У Графикону 2. приказано је учешће АЛХ у БиХ по ентитетима у односу на власништво.



Графикон 2. Учешће АЛХ у БиХ по ентитетима у односу на власништво

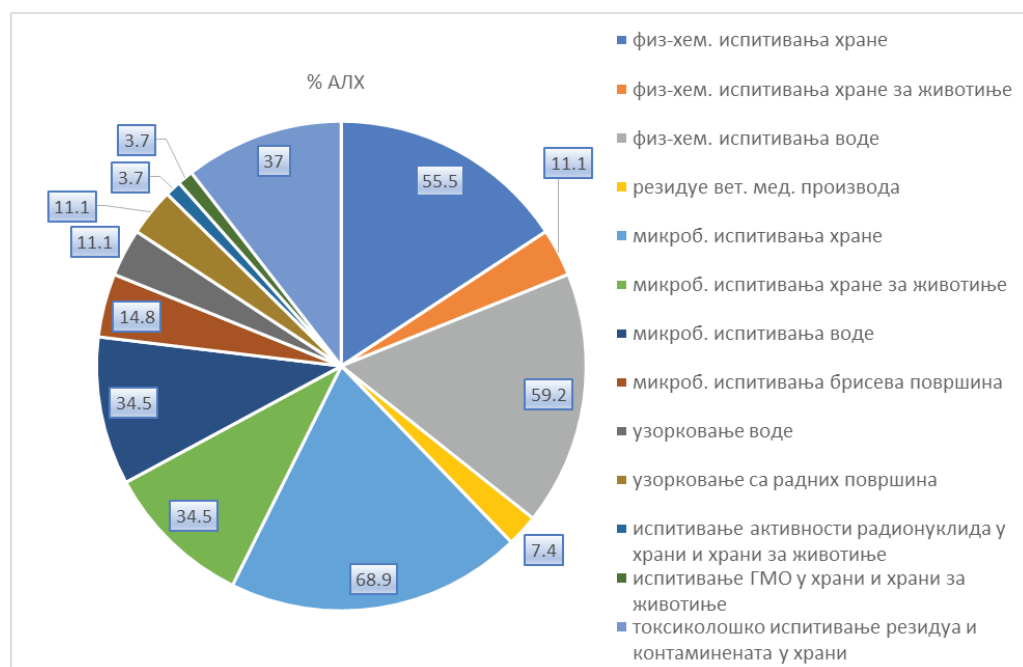
Од укупног броја АЛХ у ДВ у БиХ, у РС је 12,50%, а у ФБиХ је 87,50% (1:7). Ово се може објаснити другачијом организационом структуром ФБиХ, која се састоји од 10 кантона, и самим тим има АЛХ на федералном и кантоналном нивоу. Међутим, овај однос је исувише велики, уколико се има у виду однос броја становника између ентитета (58). Али, уколико се узме у обзир да је једна АЛХ у ДВ у РС акредитовала ме-

тоде на две локације (5), а друга АЛХ на четири од укупно пет локација на којима обавља дјелатност (6), добија се податак да је то шест АЛХ у РС, са стано-вишта локација. Ово значајно мијења однос АЛХ у ДВ (РС : ФБиХ=1:2,30), а што је и приближно реалан однос, имајући у виду однос укупног броја АЛХ у БиХ (1:2,60). Када су у питању АЛХ у ПВ у БиХ, овај однос је приближно једнак (1:1,20), што се значајно

разликује од односа укупног броја АЛХ у БиХ (1:2,60), као и односа броја становника између ентитета (58). Оваква слика АЛХ у БиХ наводи на закључак да је однос истих у ДВ сразмјеран и на основу реалних параметара, потреба и стручне процјене, планиран и формиран, док је однос АЛХ у ПВ слу-

чајан, формиран на слободној процјени стања тржишта и финансијским могућностима.

У Графикону 3. приказана је процентуална заступљеност АЛХ у БиХ у односу на подручја акредитације.



Графикон 3. Заступљеност АЛХ у БиХ у односу на подручја акредитације

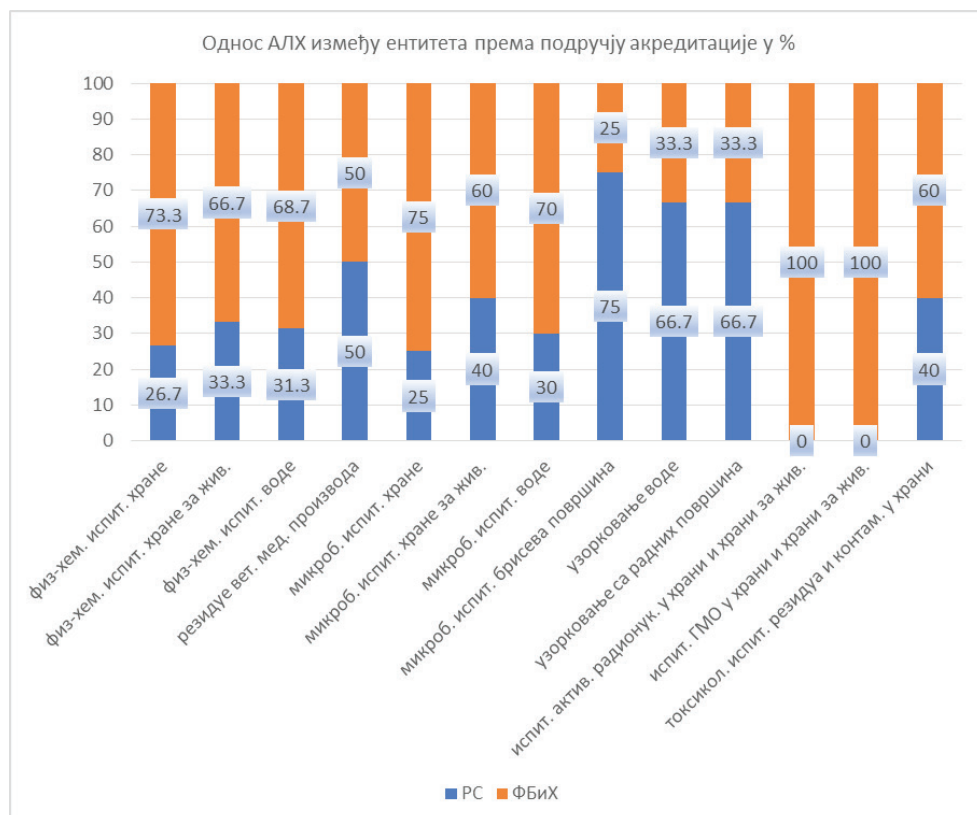
У складу са Законом о храни (36–37), лабораторије које се баве испитивањем хране морају бити акредитоване у складу са стандардом BAS EN ISO/IEC 17025. Међутим, нижи подзаконски акти имају различите захтјеве у вези акредитације, у неким је то изричит захтјев (4), док у неким није (47, 48, 50). По питању микробиолошког

испитивања воде, законска регулатива у РС није поставила захтјев за акредитованим лабораторијама (39), док на нивоу БиХ јесте (38). Правилник о микробиолошким критеријумима у храни за животиње на нивоу БиХ као услов не поставља акредитацију лабораторија (49). За критеријуме микробиолошке чистоће у РС, лабораторије мо-

рају бити акредитоване за обављање ових испитивања (42). АЛХ у БиХ акредитовале су методе испитивања у 13 техничких подручја испитивања. Када су у питању различите области испитивања хране, БиХ посједује капацитете у виду акредитованих лабораторија да одговори на ове захтјеве, а посебно су значајни капацитети за физичко-хемијска испитивања хране (55,50%) и воде (59,20%), као и микробиолошка испитивања хране (68,90%). Микробиолошка испитивања, иако веома захтјевна у вези амбијенталних услова и осигурања квалитета лабораторијског испитивања (2, 3), првенствено са финансијског и техничког аспекта, по питању опреме мање су захтјевна (финансијски приступачна, идентичне температуре инкубације, једноставна употреба и сл.) од физичко-хемијских испитивања. Такође, када су у питању обавезна микробиолошка испитивања, мањи је број параметара по врсти узорка на која се врше испитивања (4, 47, 48, 50), те се тиме може објаснити висок проценат АЛХ за ова испитивања. За разлику од микробиолошких, физичко-хемијска испитивања су комплекснија, како по броју параметара на која се врше испитивања, тако и по сложености самих поступака испитивања, а овоме доприноси и велики број врста узорака када је у питању храна, који су груписани на основу сродности (месо, млијеко, мед итд.) (40, 41, 45, 46, 52–55). Међутим, ово очигледно није била препрека да лабораторије акредитују испитне методе из подручја физичко-хемијских испитивања, па

чак и да заузимају највећи проценат у БиХ у односу на подручја акредитације. Могуће објашњење за ово је управо велики број АЛХ, велики број параметара којима се врше испитивања и велики број врста узорака, па су лабораторије, на основу сопствене процјене потреба и афинитета, вршиле одабир испитних метода које ће акредитовати. У нешто нижем проценту су заступљена токсиколошка испитивање резидуа и контаминената у храни и микробиолошка испитивања хране за животиње и воде. По заступљености затим слиједе физичко-хемијска испитивања хране за животиње и испитивања резидуа ветеринарско медицинских производа. Могуће је да је један од разлога за ово и то што није изричит захтјев законске регулативе да ова испитивања обављају акредитоване лабораторије (39, 43, 44, 46, 51), а код токсиколошких испитивања резидуа и контаминената у храни и испитивања резидуа ветеринарско медицинских производа свакако и због комплексности испитних метода, великих финансијских издатака на њихово одржавање, као и великог броја параметара којима се врше испитивања (43, 44, 51).

У Графикону 4. приказан је процентуални однос АЛХ између ентитета према подручју акредитације.



Графикон 4. Однос АЛХ између ентитета према подручју акредитације

У РС ниједна лабораторија није акредитовала испитивање генетички модификованих микроорганизама (ГМО) и испитивање активности радионуклида у храни и храни за животиње, иако постоје лабораторије које рутински обављају ова испитивања. Овај податак је забрињавајући јер РС, за разлику од ФБиХ, нема гаранцију ваљаности резултата добијених овим испитивањима. Однос лабораторија које обављају физичко-хемијска и микробиолошка испитивања воде и физичко-хемијска испитивања хране за животиње у РС према лабораторијама у ФБиХ је 1:2,

за физичко-хемијска испитивања хране је 1:2,5, за микробиолошка испитивања хране 1:3, а за микробиолошка испитивања хране за животиње и токсиколошко испитивање резидуа и контаминената у храни 1:1,5. Однос је обрнут код узорковања воде и узорковања са радних површина и износи 2:1, а код микробиолошких испитивања брисева површина чак 3:1. Овај однос је подједнак када су у питању резидуе ветеринарско-медицинских производа. Испитивање резидуа и контаминената у храни обављају искључиво АЛХ у ДВ, по једна из РС и ФБиХ (5, 14), укупно

6,90% АЛХ на нивоу БиХ. То су лабораторије које су примарно ветеринарске, у оквиру којих се обављају и испитивања хране. Такође, у ветеринарским лабораторијама се искључиво обављају и физичко-хемијска испитивања хране за животиње (укупно 10,30% АЛХ) (5, 13, 14), а када је у питању микробиолошко испитивање хране за животиње, ове лабораторије су доминантне с учешћем од 80% у односу на број АЛХ које су акредитовале ово подручје акредитације. Анализом обима акредитације АЛХ (5–33) утврдили смо да ниједна лабораторија у БиХ није акредитовала све испитне методе за испитивање свих физичко-хемијских параметара у храни, храни за животиње и води, затим у вези токсиколошких испитивања резидуа и контаминената у храни, као и резидуа ветеринарско медицинских производа, а који су прописани законском регулативом (38–41, 43–46, 51–55). Када је у питању микро-

биолошко испитивање хране на нивоу БиХ, 6,90% АЛХ (једна из РС (5) и једна из ФБиХ (13), обе у ДВ) у потпуности је акредитовало испитне методе у складу са захтјевима законске регулативе (4, 47, 48, 50). Микробиолошко испитивање хране за животиње акредитовало је 20,70% АЛХ, потпуно у складу са захтјевима законске регулативе (49), у РС по једна у ДВ (5) и ПВ (8), а у ФБиХ четири у ДВ (13–15, 26). Микробиолошко испитивање воде акредитовало је 10,30% АЛХ, потпуно у складу са захтјевима законске регулативе (38, 39), у РС једна у ДВ (5) и ПВ (8), а у ФБиХ две у ДВ (15, 23). Испитивања у складу с Правилником о критеријумима микробиолошке чистоће (42), у РС акредитовало је 12,50% АЛХ (једна лабораторија у ДВ) (5).

У Табели 3. приказан је процентуални однос АЛХ у ДВ и ПВ у БиХ према подручју акредитације.

Табела 3. Однос АЛХ у ДВ и ПВ у БиХ према подручју акредитације

Подручје акредитације	%					
	РС		ФБиХ		БиХ	
	ДВ	ПВ	ДВ	ПВ	ДВ	ПВ
ЛИ 2.1 Физичко-хемијска испитивања хране	50	50	72,70	27,30	66,70	33,30
ЛИ 2.2 Физичко-хемијска испитивања хране за животиње	100	0	100	0	100	0
ЛИ 2.3 Физичко-хемијска испитивања воде	20	80	54,50	45,50	43,80	56,20
ЛИ 2.5 Резидуе ветеринарско медицинских производа	100	0	100	0	100	0

ЛИ 3.1 Микробиолошка испитивања хране	40	60	86,70	13,30	75	25
ЛИ 3.2 Микробиолошка испитивања хране за животиње	25	75	83,30	16,70	60	40
ЛИ 3.3 Микробиолошка испитивања воде	66,70	33,30	85,70	14,30	80	20
ЛИ 3.7 Микробиолошка испитивања брисева површина	33,30	66,70	100	0	50	50
ЛИ 17.1 Узорковање воде	50	50	100	0	66,70	33,30
ЛИ 17.10 Узорковање са радних површина	0	100	100	0	33,30	66,70
ЛИ 18.1 Испитивање активности радионуклида у храни и храни за животиње	0	0	100	0	100	0
ЛИ 19.1 Испитивање генетички модификованих организама у храни и храни за животиње	0	0	100	0	100	0
ЛИ 21.1 Токсиколошко испитивање резидуа и контаминената у храни	50	50	100	0	80	20

Од укупно 13 акредитованих подручја испитивања у БиХ, лабораторије у РС су акредитовале 11 (84,60%), а у ФБиХ 13 подручја (100%). На нивоу БиХ, лабораторије у ДВ акредитовале су свих 13 подручја (100%), док су лабораторије у ПВ акредитовале 9 подручја (69,20%). Од укупног броја акредитованих подручја у РС, у 27% подручја доминирају лабораторије у ДВ, у 27% једнак је однос лабораторија у ДВ и ПВ, док су у 46% доминантне лабораторије у ПВ. За разлику од РС, у ФБиХ у свим подручјима доминирају лабораторије у ПВ (100% државне лабораторије у осам подручја, преко 70% у че-

тири и око 55% у једном подручју). На нивоу БиХ лабораторије у ДВ су доминантне у 76,90% подручја, у 7,70% однос је подједнак, а у 15,40% подручја доминирају лабораторије у ПВ. Када је у питању физичко-хемијско испитивање хране, у РС однос лабораторија у ДВ и ПВ је 1:1, док је у ФБиХ и на нивоу БиХ тај однос 2:1 у корист лабораторија у ДВ. Физичко-хемијска испитивања хране за животиње, испитивање резидуа ветеринарско-медицинских производа, ГМО и испитивање активности радионуклида у храни и храни за животиње у БиХ обављају се искључиво у лабораторијама у ДВ (5, 13, 14). У

РС, однос лабораторија у ДВ и ПВ значајно је у корист ПВ, када су у питању физичко-хемијска испитивања воде (1:3), микробиолошка испитивања хране (1:1,5) и хране за животиње (1:3) и брисева површина (1:2). Ово несумњиво указује на то да се у погледу испитивања хране са становишта безбједности, РС значајно ослања на лабораторије у ПВ. У ФБиХ, за ова подручја испитивања, ситуација је знатно другачија, гдје је однос лабораторија у ДВ и ПВ у корист ДВ (физичко-хемијска испитивања воде 1,2:1, микробиолошка испитивања хране 6,5:1, хране за животиње 5:1 и брисева површина 1:0). На нивоу БиХ, однос лабораторија у ДВ и ПВ за физичко-хемијска испитивања воде је 1:1,3, за микробиолошка испитивања хране 3:1, микробиолошка испитивања воде 4:1, а за микробиолошка испитивања брисева површина 1:1. Микробиолошка испитивања воде обављају се већином у лабораторијама у ДВ, при чему је однос ДВ и ПВ у РС 2:1, док је доминантан у ФБиХ 6:1, као и на нивоу БиХ 4:1. Ово је и разумљиво, с обзиром на то да је ријеч о води за пиће, углавном намијењеној за јавно снабдијевање, при чему су АЛХ у ДВ најопремљеније за ова испитивања и имају највеће повјерење од стране јавности. Свакако да су испитивања воде веома захтјевна и скупа, посебно физичко-хемијска, с веома малим простором за зараду, тако рећи на нивоу одржавања рентабилности, па лабораторије у ПВ не налазе значајан финан-

сијски интерес у овим испитивањима. Узорковање воде у РС подједнако раде лабораторије у ДВ и ПВ, док у ФБиХ искључиво у ДВ, те је тај однос на нивоу БиХ 2:1 у корист истих. Код узорковања са радних површина, тај однос је идентичан на нивоу ФБиХ, на нивоу БиХ обрнут (2:1 у корист ПВ), док у РС ове послове обављају искључиво лабораторије у ПВ. У вези с овим занимљив податак је акредитација метода узорковања, посебно брисева радних површина, која је више, чини се, маркетиншки потез него стручно оправдано с обзиром на важност акредитације испитних метода у циљу добијања валидних резултата, а мање метода узорковања, које, у принципу, не морају бити акредитоване (није захтјев законске регулативе). Анализом акредитованих подручја акредитације уочава се да су лабораторије у ДВ акредитовале методе у већини подручја акредитације, док су лабораторије у ПВ одабрале подручја која, свакако захтјевна са становишта акредитације, доносе већи профит јер су захтјеви за овим анализама чешћи (регулатива, специфичност производње и сл.), а методологија рада и опрема једноставнија. Ово је и разумљиво, с обзиром на то да је основни разлог постојања лабораторија у ПВ стицање профита и, у складу с тим, слободан и циљан одабир подручја за која траже овлаштења за рад од надлежних органа, а потом и подручја која акредитују.

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата, изводе се следећи закључци:

1. У Босни и Херцеговини укупно је акредитовано 29 испитних лабораторија за храну, од чега у РС 8 (27,60%), а у ФБиХ 21 (72,40%).
2. Од укупног броја акредитованих испитних лабораторија за храну, у Републици Српској је 25% у државном власништву, а 75% у приватном власништву, док је у Федерацији БиХ 66,70% у државном власништву, а 33,30% у приватном власништву. На нивоу БиХ 53,80% акредитованих испитних лабораторија за храну је у државном власништву, а 43,20% у приватном власништву. У Федерацији БиХ послови лабораторијског испитивања контроле безбједности хране, који су од јавног интереса за здравље људи, обављају се већински у акредитованим испитним лабораторијама за храну у државном власништву, а Република Српска се, по овом питању, поред сопствених (у државном власништву), веома значајних лабораторијских капацитета, већински ослања на лабораторије у приватном власништву.
3. Испитне лабораторије за храну у БиХ акредитовале су 13 различитих подручја акредитације у вези с испитивањем хране, хране за животиње, воде за пиће и микробиолошке чистоће, од чега у Републици Српској 11 (84,60%), а у ФБиХ 13 подручја (100%). На нивоу БиХ лабораторије у државном власништву су доминантне у 76,90% подручја, у 7,70% однос је подједнак, а у 15,40% подручја доминирају лабораторије у приватном власништву. Од акредитованих подручја у Републици Српској, у 27% доминирају лабораторије у државном власништву, у 27% једнак је однос лабораторија у државном и приватном власништву, док у 46% доминирају лабораторије у приватном власништву, док у ФБиХ у свим акредитованим подручјима (100%) доминирају лабораторије у државном власништву. Лабораторије у државном власништву акредитовале су испитне методе у свих 13 подручја (100%), а у приватном власништву у 9 подручја (69,20%). Лабораторије у приватном власништву одабрале су подручја акредитације која доносе већи профит, јер су захтјеви за овим анализама чешћи, а методологија рада и опрема једноставнија.
4. Физичко-хемијска испитивања хране за животиње, испитивање резидуа ветеринарско-медицинских производа, генетски модификованих организама и испитивање активности радионуклида у храни и храни за животиње у БиХ обављају се искључиво у лабораторијама у државном власништву. На нивоу БиХ, испитивање резидуа и контаминената у храни обављају искључиво лабораторије у државном власништву.

чиво ветеринарске лабораторије у државном власништву (6,90% акредитованих лабораторија). У ветеринарским лабораторијама се, такође, искључиво обављају и физичко-хемијска испитивања хране за животиње (10,30% акредитованих лабораторија), а ове лабораторије учествују 80% у микробиолошком испитивању хране за животиње.

5. БиХ посједује значајне капацитете акредитованих испитних лабораторија за храну, при чему је њихово учешће у физичко-хемијским испитивањима хране 55,50%, воде 59,20%, а микробиолошких испитивања хране 68,90%.
6. Ниједна испитна лабораторија за храну у БиХ није акредитовала све испитне методе за испитивање свих физичко-хемијских параметара у храни, храни за животиње и води,

затим у вези токсиколошких испитивања резидуа и контаминената у храни, као и резидуа ветеринарско медицинских производа, а који су прописани законском регулативом. Са становишта акредитације, захтјеви законске регулативе у потпуности задовољава 6,90% акредитованих испитних лабораторија за храну (све су у државном власништву) за микробиолошко испитивање хране, 20,70% акредитованих лабораторија за микробиолошко испитивање хране за животиње, а за микробиолошко испитивање воде 10,30% акредитованих лабораторија. Испитивања у складу с Правилником о критеријумима микробиолошке чистоће у Републици Српској акредитовало је 12,50% испитних лабораторија за храну (у државном власништву).

ЛИТЕРАТУРА

1. BAS EN ISO/IEC 17025. 2006. Општи захтјеви за компетентност испитних и калибрационих лабораторија. Институт за стандардизацију БиХ. 2. издање.
2. BAS EN ISO 7218. 2008. Микробиологија хране и хране за животиње – Генерални захтјеви и водич за микробиолошка испитивања. Институт за стандардизацију БиХ. 1. издање.
3. BAS EN ISO 11133. 2015. Микробиологија хране, хране за животиње и воде – Припрема, производња, складиштење и испитивање перформанси храњивих подлога. Институт за стандардизацију БиХ. 1. издање.
4. Водич за примјену микробиолошких критеријума за храну. 2013. Агенција за безбједност хране БиХ.
5. Додатак акредитацији бр. ЛИ-41-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 04.01.2018.
6. Додатак акредитацији бр. ЛИ-40-01. 2015. Институт за акредитовање

БиХ. Ревизија 1 од 26.10.2016.

7. Додатак акредитацији бр. ЛИ-49-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 02.02.2018.
8. Додатак акредитацији бр. ЛИ-50-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 22.02.2017.
9. Додатак акредитацији бр. ЛИ-83-01. 2014. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 3 од 24.03.2016.
10. Додатак акредитацији бр. ЛИ-28-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 19.12.2016.
11. Додатак акредитацији бр. ЛИ-06-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 29.03.2016.
12. Додатак акредитацији бр. ЛИ-14-02. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 16.05.2016.
13. Додатак акредитацији бр. ЛИ-24-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 03.04.2017.
14. Додатак акредитацији бр. ЛИ-43-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 12.01.2018.
15. Додатак акредитацији бр. ЛИ-61-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 03.04.2017.
16. Додатак акредитацији бр. ЛИ-65-01. 2013. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 3 од 03.11.2016.
17. Додатак акредитацији бр. ЛИ-96-01. 2015. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 14.06.2016.
18. Додатак акредитацији бр. ЛИ-01-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 18.01.2018.
19. Додатак акредитацији бр. ЛИ-97-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 23.03.2016.
20. Додатак акредитацији бр. ЛИ-67-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 19.12.2016.
21. Додатак акредитацији бр. ЛИ-63-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 09.02.2017.
22. Додатак акредитацији бр. ЛИ-62-01. 2014. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 3 од 17.05.2016.
23. Додатак акредитацији бр. ЛИ-58-01. 2013. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 3 од 06.09.2016.
24. Додатак акредитацији бр. ЛИ-45-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 19.07.2016.

25. Додатак акредитацији бр. ЛИ-122-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 13.11.2017.
26. Додатак акредитацији бр. ЛИ-125-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 01.06.2017.
27. Додатак акредитацији бр. ЛИ-66-01. 2014. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 17.05.2016.
28. Додатак акредитацији бр. ЛИ-91-01. 2014. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 07.04.2016.
29. Додатак акредитацији бр. ЛИ-108-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 28.11.2016.
30. Додатак акредитацији бр. ЛИ-44-01. 2015. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 22.02.2017.
31. Додатак акредитацији бр. ЛИ-54-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 29.02.2016.
32. Додатак акредитацији бр. ЛИ-53-01. 2016. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 21.03.2016.
33. Додатак акредитацији бр. ЛИ-16-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 02.02.2018.
34. Закон о акредитовању Босне и Херцеговине. 2001. Службени гласник БиХ. Број 19.
35. Закон о оснивању Института за акредитовање Босне и Херцеговине. 2002. Службени гласник БиХ. Број 10.
36. Закон о храни. 2004. Службени гласник БиХ. Број 50.
37. Закон о храни. 2017. Службени гласник Републике Српске. Број 19.
38. Правилник о здравственој исправности воде за пиће. 2010. Службени гласник БиХ. Број 40.
39. Правилник о здравственој исправности воде за пиће. 2015. Службени гласник Републике Српске. Број 75.
40. Правилник о квалитету пчелињих производа. 2016. Службени гласник Републике Српске Број 14.
41. Правилник о квалитету свјежег сировог млијека. 2015. Службени гласник Републике Српске број. Број 81.
42. Правилник о критеријумима микробиолошке чистоће. 2014. Службени гласник Републике Српске. Број 99.
43. Правилник о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни. 2014. Службени гласник БиХ. Број 68.
44. Правилник о максимално дозвољеним количинама фармаколошки ак-

- тивних материја у производима животињског поријекла. 2011. Службени гласник БиХ. Број 61.
45. Правилник о меду и другим пчелињим производима. 2009. Службени гласник БиХ. Број 37.
46. Правилник о методама узорковања и аналитичким методама за проведбу службених контрола хране за животиње. 2013. Службени гласник БиХ. Број 65.
47. Правилник о микробиолошким критеријумима за храну. 2012. Службени гласник Републике Српске. Број 109.
48. Правилник о микробиолошким критеријумима за храну. 2013. Службени гласник БиХ. Број 11.
49. Правилник о микробиолошким критеријумима у храни за животиње. 2012. Службени гласник БиХ. Број 67.
50. Правилник о микробиолошким критеријумима хране животињског поријекла. 2012. Службене новине ФБиХ. Број 80.
51. Правилник о нежељеним супстанцама у храни за животиње. 2011. Службени гласник БиХ. Број 72.
52. Правилник о производима од млијека и стартер културама. 2011. Службени гласник БиХ. Број 21.
53. Правилник о сировом млијеку. 2011. Службени гласник БиХ. Број 21.
54. Правилник о уситњеном месу, полупроизводима и производима од меса. 2013. Службени гласник БиХ. Број 82.
55. Правилник о уситњеном месу, полупроизводима и производима од меса. 2015. Службени гласник Републике Српске. Број 46.
56. Систем акредитовања Босне и Херцеговине. 2017. Институт за акредитовање Босне и Херцеговине. ПД 05-01. Издање 31.
57. http://www.bata.gov.ba/Akreditirana_tijela/Spisak-akreditiranih-tijela.pdf (02.02.2018.)
58. <http://www.statistika.ba/>

Рад примљен: 24.1.2018.
Рад прихваћен: 21.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801004G

UDK: 664:63(497.6)"2017"

Original scientific paper

CAPACITY OF ACCREDITED TESTING LABORATORIES FOR FOOD IN BOSNIA AND HERZEGOVINA IN 2017 IN RELATION TO THE FIELDS OF ACCREDITATION

Bojan GOLIĆ¹, Drago NEDIĆ¹, Slobodan DOJČINOVIĆ¹

1 Dr. Sc. Bojan Golic Spec. Dr. Vet.; Prof. Dr. Sc. Drago Nedic Dr. Vet.; Dr. Sci. Slobodan Dojcinovic Spec. Dr. Vet. Public Institution Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan“, Branka Radičevića 18, 78000 Banja Luka, Republic of Srpska, B&H

* Corresponding author: Dr. Sci. Bojan Golic Spec. Dr. Vet., bojan.golic@virs-vb.com

Abstract: Accreditation refers to the formal recognition that a conformity assessment body (laboratory) is competent to conduct conformity assessment activities according to internationally accepted rules. The accreditation of conformity assessment bodies in Bosnia and Herzegovina (B&H) is implemented by the Institute for Accreditation of B&H (BATA). Accreditation provides confidence in the laboratory test results and it is carried out according to the standard BAS EN ISO / IEC 17025: 2006. Test laboratories for food in a wider sense include laboratories dealing with food, animal feed, drinking and swabs. The aim of the test is to determine the capacities of accredited test laboratories for food in B&H in relation to the field of examination or the field of accreditation. This enables a clear insight into the readiness of test food labs to respond to food control requirements in order to protect the health of animals and humans. During 2017, 29 food laboratories were accredited in Bosnia and Herzegovina, 8 in Republika Srpska, and 21 in the Federation of B&H. Out of 13 accredited testing areas in B&H, laboratories in Republika Srpska accredited 10 fields (76.90%), while laboratories in the Federation of B&H accredited 13 areas (100%). When it comes to different food testing fields, B&H has capacities in the form of accredited laboratories to respond to these requirements, and especially important capacities are those for physicochemical food and water testing and microbiological food testing (over 55% of accredited laboratories). They are followed by microbiological testings of animal feed and water and toxicological testing of residues and contaminants in food (over 30% of accredited laboratories)

Keywords: accreditation, testing laboratories, food.

INTRODUCTION

Accreditation implies a formal acknowledgment that some conformity assessment body is competent to carry out conformity assessment activities in accordance with internationally accepted rules (34). Conformity assessment is any activity through which it is directly or indirectly determined whether the relevant requirements have been met. Conformity assessment body is a supplier-independent laboratory, certification body, inspection body or any other body involved in conformity assessment which can be a state authority or a legal or natural person.

Accreditation is a document that demonstrates competence to perform certain tasks in the area of assessment of conformity. The accreditation procedure determines the competence of legal and natural persons, which can represent, in whole or in part, a conformity assessment body in relation to the requirements of B&H, European and international standards or documents of European and international accreditation organizations.

Accreditation of the conformity assessment body in Bosnia and Herzegovina (B&H) is carried out by the Institute for Accreditation of B&H (BATA) (35). BATA is responsible for developing, implementing and maintaining B&H Accreditation System (SAB&H), implementing the accreditation and supervision procedure of the conformity assessment body, representing B&H in European

and international organizations for accreditation, organizing and implementing specialist staff training in the field of accreditation, and developing and establishing information system on assigned accreditations and on documents in the field of accreditation.

BATA sets out the criteria for approving and maintaining accreditation to be met by the Compliance Assessment Bodies (TOU), the process of accreditation and the financing of the accreditation system (56). Laboratory accreditation ensures confidence in the results of laboratory tests, and is carried out according to the standard BAS EN ISO / IEC 17025: (1). Within SAB&H test laboratories, calibration laboratories, medical laboratories, inspection bodies, product certification bodies, staff certification bodies and certification bodies for the management system can be accredited.

Test laboratories for food in a wider sense include laboratories dealing with food, animal feed and drinking water testing. Also, these laboratories carry out tests in order to evaluate the microbiological purity of equipment, devices, accessories, working surfaces, work clothes and workers' hands in production facilities and means of transport that come into contact with food where there is a risk of occurrence and spread of infectious diseases (42).

The food test laboratories must be accredited in accordance with the standard EN ISO / IEC 17025 (36-38,

42). Food testing in B&H is performed by authorized state and privately-owned laboratories in both Entities, Republika Srpska (RS) and the Federation of Bosnia and Herzegovina (FB&H), in accordance

with the Food Act (36, 37) and other regulations. There is no accredited laboratory in the Brcko District (BD).

OBJECTIVES AND TASKS OF TESTING

The aim of the study is to determine the capacities of the accredited test laboratories for food in B&H in relation to the field of testing or the field of accreditation. In this way, a clear insight

into the capacity of test food laboratories to respond to food safety requirements in order to protect animal and human health will be obtained.

MATERIAL AND METHODS

Material

As a test material, Annex to Accreditation Certificate of Accredited Testing Laboratories in B&H was used, downloaded from the BATA website (57).

Laboratories from RS territory:

I State Ownership

1. PIVeterinary Institute of Republic of Srpska "Dr. Vaso Butozan", Banja Luka (5)
2. Public Health Institution "Institute of Public Health", Banja Luka (6)

II Private ownership

1. Veterinary Institute "Teolab", Bijeljina (7)
2. Slaven d.o.o. Veterinary Institute, Banja Luka (8)
3. Gross d.o.o. Gradiska (9)
4. Institute for waters d.o.o., Bijeljina (10)
5. "EURO-INSPEKT" d.o.o., Osijek (11)

6. SISTEM QUALITA, S d.o.o., Pale (12)

Laboratories from FB&H territory:

I State Ownership

1. PI "Veterinary Institute" Bihać, Bihać (13)
2. Veterinary Faculty of the University of Sarajevo, Sarajevo (14)
3. PI "Veterinary Institute of Tuzla Canton", Tuzla (15)
4. Examination laboratory PI "RAD" d.d., Tešanj (16)
5. Public Health Institute of the Federation of Bosnia and Herzegovina (17)
6. KJP Veterinary station d.o.o., Sarajevo (18)
7. ZU Public Health Institute USK, Bihać (19)
8. Federal Bureau of Agriculture, Sarajevo (20)
9. Public Health Institute SBK / KSB, Travnik (21)

10. Public Health Institute of Tuzla Canton, Tuzla (22)
11. Public Health Institute of Sarajevo Canton, Sarajevo (23)
12. Federal Agromediterranean Institute, Mostar (24)
13. PI Institute for Health and Food Safety, Zenica (25)
14. PI Veterinary Institute of HNK / Ž, Mostar (26)

II Private ownership

1. Zagrebinspekt d.o.o., Mostar (27)
2. The Sava River Basin Agency, Sarajevo (28)
3. PI Institute for Biomedical Diagnosis and Research "GENOM", Travnik (29)
4. DVOKUT pro d.o.o., Sarajevo (30)
5. CONTROL-H d.o.o., Mostar (31)

6. Pharmamed d.o.o., Travnik (32)

7. HERKON d.o.o., Mostar (33)

The laboratories are displayed according to the registered name and headquarters of the legal entity, without mentioning their regional locations and accredited organizational units.

Methods

In our research and in the statistical analysis of the obtained results we used descriptive statistical parameters as basic statistical methods. These parameters enable the description of the obtained results and their interpretation. The results of the research are presented in a tabular and graphical form. Statistical analysis of the results was done in Microsoft Office Excel statistical software.

RESULTS AND DISCUSSION

In B&H, 29 testing laboratories for food (ALF) are accredited, of which 8 in the RS (27.60%) and 21 in the FB&H (72.40%), while in the Brčko District (BD) there is no ALF (Table 1). The ratio

of ALFs among entities (RS to FB&H) is 1: 2.60. This ratio is 0.8 higher than the ratio of the population between the entities (RS: FB&H = 1: 1.8) (58).

Table 1. Accredited testing laboratories for food in B&H

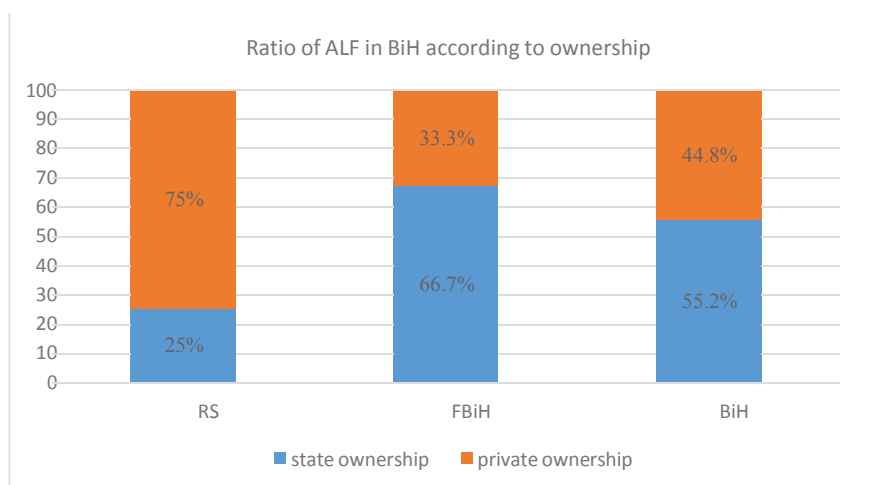
Location	Number of ALF	%
RS	8	27,60
FB&H	21	72,40
BD	0	0
B&H	29	100

Table 2 and **Graph 1** show the numerical and percentage ratio of ALFs in B&H according to ownership.

Table 2. numerical ratio of ALFs in B&H according to ownership

Location	Number	
	SO	PO
RS	2	6
FB&H	14	7
B&H	16	13

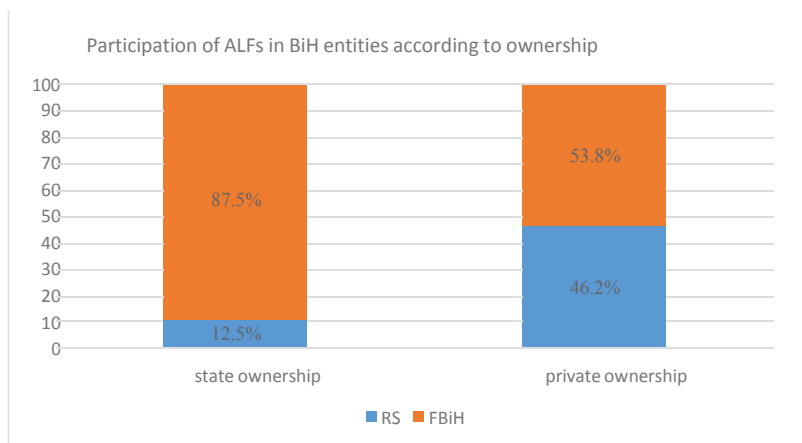
*SO - state-owned laboratories ; PO- privately-owned laboratories

**Graph 1. Ratio of ALFs in B&H according to ownership**

In RS, 25% of ALFs are in SO, 75% in PO (1: 3). This relationship is significantly different in FB&H, where 66.70% of ALFs are in SO, vs 33.30% in PO (2: 1). At the B&H level, the ALF ratio, when it comes to state and private ownership, is even (1.20: 1). Based on these data it can be concluded that in FB&H, laboratory tests on food safety

controls, which are of public interest to human health, are mostly performed by state-owned ALFs. By contrast, RS, apart from its own (state), very important laboratory capacities, relies mostly on privately-owned laboratories.

Graph 2 shows the participation of ALFs in B&H by entities in relation to ownership.

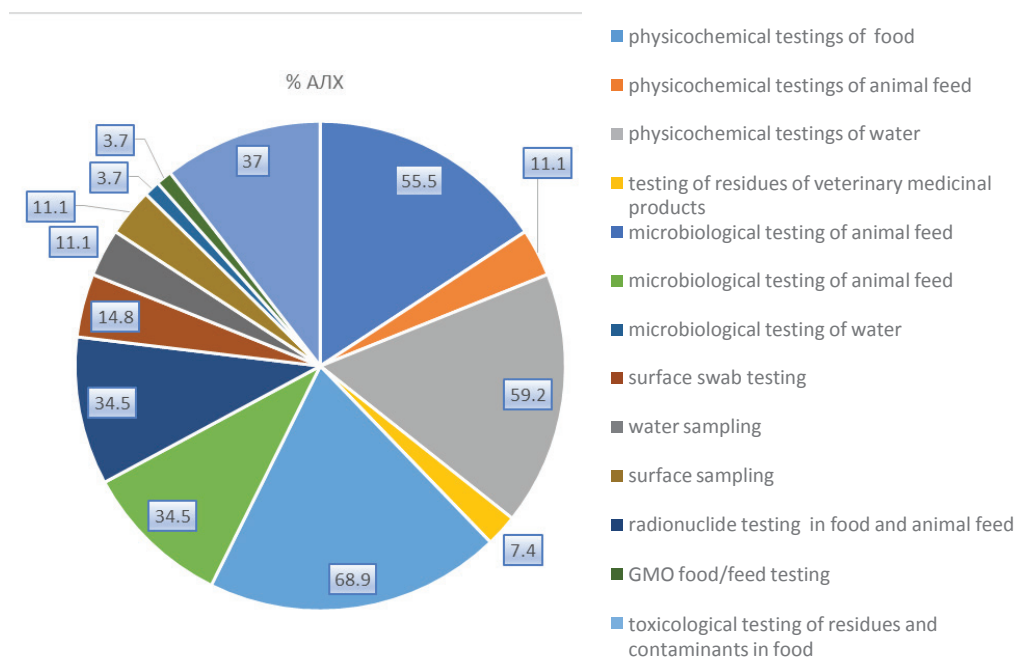


Graph 2. Participation of ALF in B&H entities according to ownership

Of the total number of state-owned ALF in B&H, 12.50% of them are in RS, and 87.50% (1: 7) in FB&H. This can be explained by the different organizational structure of the FB&H, which consists of 10 cantons, and therefore there are ALFs on the federal and cantonal levels. However, this ratio is too high, compared to the ratio between the number of people in the entities. But, considering that one state-owned ALF in RS accredited methods at two locations (5), and the other ALF in four of the five operating locations (6), that would be six ALFs in RS. This significantly changes the ratio of state-owned ALFs (RS: FB&H = 1: 2.30), which is approximately actual relation, considering the total number of

ALFs in B&H (1: 2.60). When it comes to privately-owned ALFs in B&H, this ratio is approximately equal (1: 1,20), which is significantly different from the ratio of the total number of ALFs in B&H (1: 2,60), and the ratio of the population between entities (58). This suggests that the relation of state-owned ALFs is proportional, planned and formed on the basis of the real parameters, needs and expert assessments, while the ratio of privately-owned ALFs is random, formed on a free assessment of market conditions and financial capabilities.

Graph 3 shows representation of ALF in B&H in relation to the fields of accreditation.



Graph 3. Representation of ALFs in B&H in relation to the fields of accreditation

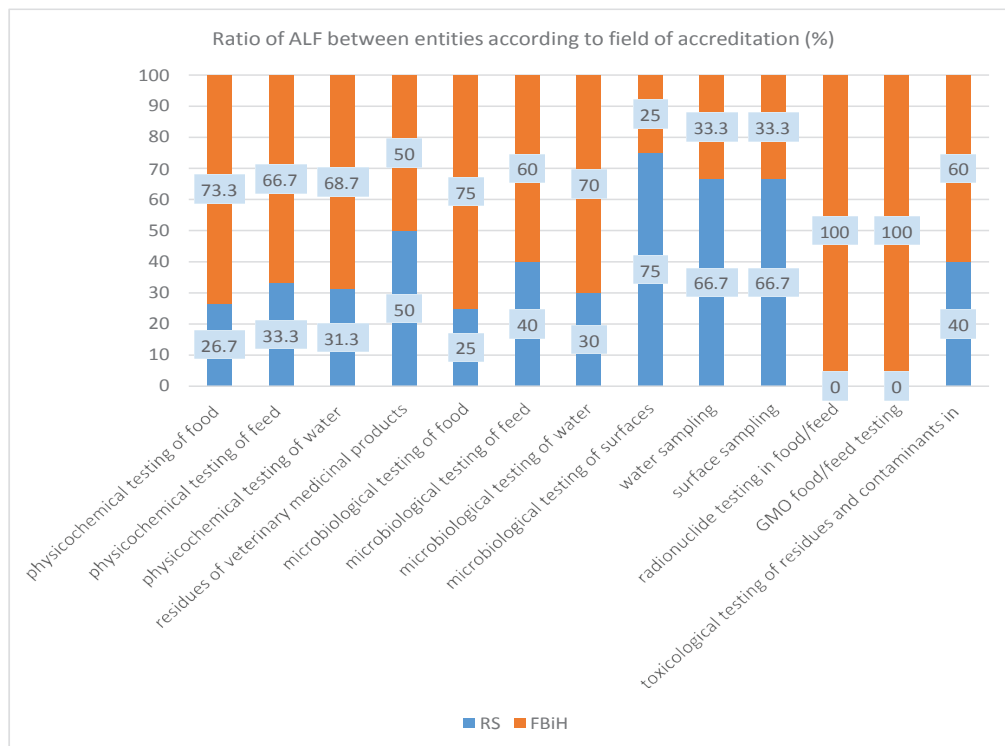
In accordance with the Food Act (36–37), food testing laboratories must be accredited in accordance with the standard BAS EN ISO / IEC 17025. However, regulations have different requirements regarding accreditation, in some of them accreditation is explicitly requested (4), while in some it is not (47, 48, 50). Regarding the microbiological examination of water, the legislation in RS doesn't include request for accredited laboratories (39), while at the B&H level it does (38). The Rulebook on the microbiological criteria for animal feed doesn't set accreditation of laboratories as a condition. For microbiological purity criteria in RS, the laboratories must be accredited to carry out these tests. ALFs in B&H accredited test methods in 13

technical fields of testing. When it comes to different food testing fields, B&H has capacities in the form of accredited laboratories to respond to these requirements, and particularly important are the capacities for physicochemical food testing (55,50%), water testing (59,20%), as well as microbiological food testing (68,90%). Microbiological tests are very demanding in terms of ambient conditions and quality assurance of laboratory testing (2, 3), primarily from the financial and technical aspect. However they are less demanding in terms of equipment (financially accessible, identical incubation temperatures, simple use, etc.) than chemical testings. Also, when it comes to mandatory microbiological tests, there is a smaller

number of parameters per sample type to which the studies are performed (4, 47, 48, 50), and this may explain a high percentage of ALFs for these tests. Unlike microbiological, physicochemical studies are more complex, by the number of parameters to be tested and by the complexity of the test procedures. A large number of sample types that are grouped on the basis of their similarity (meat, milk, honey, etc.) also contributes to this complexity (40, 41, 45, 46, 52-55). However, this obviously has not been an obstacle for laboratories to accredit test methods in the field of physicochemical testing and they take the largest percentage of accreditation field in B&H. A possible explanation for this is a large number of ALFs, a large number of parameters for testing and a large number of sample types of , so the laboratories, on the basis of their own assessment, needs and affinities, selected the test

methods to be accredited. Toxicological tests of residues and contaminants in food and microbiological testing of animal feed and water are somewhat less represented. They are followed by physicochemical testings of animal feed and testing of residues of veterinary medicinal products. The fact that there is no explicit requirement of the legislation for these tests to be performed by accredited laboratories (39, 43, 44, 46, 51) might be the reason for this, along with the complexity of the test methods, the large financial expenditures for their maintenance, as well as the large number of parameters that are being tested (43, 44, 51) in toxicological testing of residues and contaminants in food and testing of residues of veterinary medicinal products.

Graph 4 shows the percentage of ALFs in the entities according to the field of accreditation



Graph 4. Ratio of ALF between entities according to field of accreditation

In Republika Srpska no laboratory has accredited GMO testing and radionuclide testing in food and animal feed, although there are laboratories that routinely perform these tests. This data is worrying because the RS, unlike the FB&H, does not guarantee the validity of the results obtained by these tests. The ratio of laboratories that perform physicochemical and microbiological testing of water and physicochemical testing of animal feed in the RS to laboratories in the FB&H is 1: 2, for microbiological tests of food the ratio is 1: 3, while for microbiological testing of animal feed and toxicological testing of residues and contamination

in food the ratio is 1: 1.5. The ratio is reversed in water and surface sampling and it is 2:1, while in microbiological surface swab testing the ratio is 3: 1. In testing of residues of veterinary medicinal products the ratio is equal. The testing of residues and contaminants in food is performed exclusively by state-owned ALFs, one from the RS and one from the FB&H (5, 14), total of 6.90% ALFs at the level of B&H. These laboratories are primarily veterinary in which food testing is also performed. Also, veterinary laboratories carry out physicochemical tests of animal feed (altogether 10,30% ALF) (5, 13, 14), and when it comes to microbiological testing

of animal feed, these laboratories are dominant with participation of 80% in relation to the number of ALFs which accredited this field of accreditation. By analyzing the scope of ALF accreditation (5-33), we have established that no laboratory in B&H has accredited all test methods for testing all physico-chemical parameters in food, animal feed and water, toxicological testing of residues and contaminants in food, and residues of veterinary medicinal products, which are prescribed by the legislation (38-41, 43-46, 51-55). When it comes to microbiological testing of food at the level of B&H, 6.90% of ALFs (one from the RS (5) and one from the FB&H (13), both state-owned) fully accredited the test methods in accordance with the requirements of the legal regulations (4, 47, 48, 50). Fully compliant with the requirements of the legal regulations

(49), microbiological testing of animal feed has been accredited by 20.70% of ALFs, one state-owned laboratory (5) and one privately-owned laboratory (8) in the RS and four state-owned laboratories (13-15, 26) in the FB&H. Microbiological examination of water has been accredited by 10.30% of ALFs, fully compliant with the requirements of the legal regulations (38, 39), one state-owned (5) laboratory and one privately-owned (8) in the RS, two state-owned in the FB&H (15, 23). Testings in accordance with the Rule book on microbiological purity criteria (42), have been accredited in 12.50% of ALFs in the RS (one state-owned laboratory) (5).

Table 3 shows the percentage ratio of state-owned and privately-owned ALFs in B&H according to the field of accreditation.

Table 3. Ratio of state-owned and privately-owned ALFs in B&H according to the field of accreditation.

Field of accreditation	%					
	RS		FB&H		B&H	
	SO	PO	SO	PO	SO	PO
LI 2.1 Physicochemical testing of food	50	50	72,70	27,30	66,70	33,30
LI 2.2 Physicochemical testing of feed	100	0	100	0	100	0
LI 2.3 Physicochemical testing of water	20	80	54,50	45,50	43,80	56,20
LI 2.5 Residues of veterinary medicinal products	100	0	100	0	100	0
LI 3.1 Microbiological testing of food	40	60	86,70	13,30	75	25

LI 3.2 Microbiological testing of animal feed	25	75	83,30	16,70	60	40
LI 3.3 Microbiological testing of water	66,70	33,30	85,70	14,30	80	20
LI 3.7 Microbiological testing of surfaces	33,30	66,70	100	0	50	50
LI 17.1 Water sampling	50	50	100	0	66,70	33,30
LI 17.10 Surface sampling	0	100	100	0	33,30	66,70
LI 18.1 Radionuclide testing in food and animal feed	0	0	100	0	100	0
LI 19.1 GMO food/feed testing	0	0	100	0	100	0
LI 21.1 Toxicological testing of residues and contaminants in food	50	50	100	0	80	20

Out of 13 accredited testing fields in B&H, laboratories in the RS accredited 11 (84.60%), and in the FB&H 13 fields (100%). At the B&H level, state-owned laboratories accredited all 13 fields (100%), while privately-owned laboratories accredited 9 fields (69.20%). Of the total number of accredited fields in RS, state-owned laboratories dominate in 27% of the fields, in 27% of the fields the ratio of state and privately-owned laboratories is the same, while in 46% of the fields the predominant laboratories are privately-owned ones. Unlike RS, in the FB&H, privately-owned laboratories are dominant in all fields (100% of state-owned laboratories in eight fields, over 70% in four fields and about 55% in one field). At the level of B&H state-owned laboratories are dominant in 76.90% of the fields, in 7.70% of them the ratio is equal, and in 15.40% of the fields are dominated by privately-owned laboratories. When it comes to

physicochemical food testing, in the RS the ratio of state-owned laboratories to privately-owned ones is 1: 1, while in the FB&H and at the level of B&H this ratio is 2: 1 in favor of laboratories in state ownership. Physico-chemical testing of animal feed, testing of residues of veterinary medicinal products, GMO testings and radionuclide testing in food and animal feed in B&H are performed exclusively in state-owned laboratories (5, 13, 14). In the RS, the ratio of state-owned laboratories to privately-owned ones is significantly in favor of privately-owned ones, in physicochemical testing of water (1: 3), in microbiological testing of food (1: 1.5), animal feed (1: 3) and in surface swab tests (1: 2). This undoubtedly indicates that, in terms of testing food from a safety perspective, Republika Srpska relies heavily on laboratories in private ownership. In the FB&H, for these fields of testing, the situation is significantly different, where

the ratio of state-owned laboratories to privately-owned laboratories is in favor of state-owned ones (in physical and chemical testing of water 1,2: 1, in microbiological testing of food 6,5: 1, of animal feed 5: 1 and in surface swab test 1: 0). At the level of B&H, the ratio of SO laboratories to PO laboratories for physicochemical testings of water is 1: 1.3, for microbiological testing of food 3: 1, microbiological tests of water 4: 1, and for microbiological testing of surface it is 1: 1. Microbiological testing of water is performed mostly in SO laboratories. In RS the ratio of SO laboratories to PO laboratories is 2:1, while in the FB&H the ratio is 6:1 and at B&H level it is 4:1. This is understandable, since drinking water is mainly intended for public supply, and state-owned ALFs are best equipped for these tests and they also have the greatest public trust. Water tests are very demanding and costly, especially the physicochemical ones, with very little space for making profit, so privately-owned laboratories do not have a significant financial interest in these tests. Water sampling in the RS is equally performed by SO and PO laboratories, while in the FB&H sampling is exclusively done in state-owned laboratories and this ratio at the level of B&H is 2: 1 in favor of SO laboratories. In surface

sampling this ratio is identical at FB&H level, at the B&H level (2: 1 in favor of PO laboratories), while in the RS surface sampling is performed exclusively by privately-owned laboratories. The accreditation of the sampling methods, especially the surface sampling seems to be a marketing move rather than it is professionally justified considering the importance of accreditation of test methods in order to obtain valid results, and they actually do not have to be accredited (not a requirement of legal regulation). By analyzing accredited fields of accreditation it is noted that laboratories in state ownership accredited methods in most fields of accreditation, while privately-owned laboratories have selected demanding fields from the standpoint of accreditation, which bring higher profit because the requirements for these analyzes are more frequent (regulation, specificity of production, etc.), while the methodology and equipment is simpler. This is understandable, considering the fact that the basic reason for the existence of privately-owned laboratories is gaining profit and, accordingly, a free and targeted selection of fields for which they require work authorizations and field accreditation of the competent authorities.

CONCLUSION

Based on the obtained results, the following conclusions are drawn:

1. In Bosnia and Herzegovina, 29 testing laboratories for food were

accredited, of which 8 in the RS (27.60%), and in the FB&H 21 (72.40%).

2. Of the total number of accredited

testing laboratories for food, in the RS, 25% of them are state-owned and 75% of them are in private ownership, while in the Federation of B&H 66.70% of ALFs are state-owned and 33.30% of ALFs are privately owned. At the level of B&H, 53.80% of accredited testing laboratories for food are state-owned and 43.20% are privately owned. In the Federation of Bosnia and Herzegovina, the tasks of laboratory food safety testings which are of public interest for human health, are performed mostly in accredited state-owned testing laboratories for food, while Republika Srpska, in addition to its own significant (state-owned) laboratory capacity, relies mostly on privately-owned laboratories.

3. Food testing laboratories in Bosnia and Herzegovina have accredited 13 different fields of accreditation related to testing food, animal feed, drinking water and microbiological purity, of which 11 in the Republika Srpska (84.60%) and 13 in the FB&H (100%). At state level, state-owned laboratories are dominant in 76.90% of the fields, in 7.70% the ratio is equal, and privately-owned laboratories are dominant in 15.40% of the fields. 27% of the accredited fields in Republika Srpska are dominated by state-owned laboratories, in 27% of the fields the ratio of laboratories in state and private

ownership is the same, 46% of the fields are dominated by privately-owned laboratories, while in the FB&H state-owned laboratories dominate in all accredited fields (100%). State-owned laboratories accredited test methods in all 13 fields (100%), and privately owned ones in 9 fields (69.20%). Privately-owned laboratories have selected fields of accreditation that bring greater profits, as the requirements for these analyzes are more common, and the methodology of work and equipment is simpler.

4. Physicochemical tests of animal feed, testings of residues of veterinary medicinal products, GMO testings and testing of radionuclide activity in food and animal feed in B&H are carried out exclusively in state-owned laboratories. At the B&H level, testing of residues and contaminants in food is performed exclusively by state-owned veterinary laboratories (6.90% of accredited laboratories). Physicochemical testing of animal feed is also exclusively performed in veterinary laboratories (10.30% of accredited laboratories), and these laboratories account for 80% of the microbiological testing of animal feed.
5. B&H has significant capacities of accredited test laboratories for food, their participation in physicochemical food testing is

55.50%, 59.20% in water testing, and 68.90% in microbiological testing of food.

6. No test laboratory for food in B&H has accredited all test methods for testing all physicochemical parameters in food, animal feed and water, or regarding toxicological testing of residues and contaminants in food and residues of veterinary medicinal products, which are prescribed by legislation. From the standpoint of accreditation, the requirements

of the legislation are fully met by 6.90% of accredited test laboratories (all state-owned) for microbiological food testing, 20.70% of accredited laboratories for microbiological testing of animal feed, and 10.30% of laboratories for microbiological testing of water. Testings in accordance with the Rulebook on criteria of microbiological purity in the RS were accredited by 12.50% of food testing laboratories (state-owned).

REFERENCES

1. BAS EN ISO/IEC 17025. 2006. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Institute for standardization of B&H. 2. izdanje.
2. BAS EN ISO 7218. 2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations. Institute for standardization of B&H. 1. edition.
3. BAS EN ISO 11133. 2015. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Institute for standardization of B&H. 1. izdanje.
4. Guide to the Application of Microbiological Criteria for Food. 2013 Food Safety Agency B&H.
5. Addendum to accreditation no. LI-41-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 04.01.2018.
6. Addendum to accreditation no. LI-40-01. 2015. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 26.10.2016.
7. Addendum to accreditation no. LI-49-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 02.02.2018.
8. Addendum to accreditation no. LI-50-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 22.02.2017.
9. Addendum to accreditation no. LI-83-01. 2014. Institute for accreditation of B&H. Revision 3 from 24.03.2016.
10. Addendum to accreditation no. LI-28-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 19.12.2016.
11. Addendum to accreditation no. LI-06-01. 2016. Institute for accreditation of

- B&H. Revision 0 from 29.03.2016.
12. Addendum to accreditation no. LI-14-02. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 16.05.2016.
 13. Addendum to accreditation no. LI-24-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 03.04.2017.
 14. Addendum to accreditation no. LI-43-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 12.01.2018.
 15. Addendum to accreditation no. LI-61-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 03.04.2017.
 16. Addendum to accreditation no. LI-65-01. 2013. Institute for accreditation of B&H. Revision 3 from 03.11.2016.
 17. Addendum to accreditation no. LI-96-01. 2015. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 14.06.2016.
 18. Addendum to accreditation no. LI-01-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 18.01.2018.
 19. Addendum to accreditation no. LI-97-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 23.03.2016.
 20. Addendum to accreditation no. LI-67-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 19.12.2016.
 21. Addendum to accreditation no. LI-63-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 09.02.2017.
 22. Addendum to accreditation no. LI-62-01. 2014. Institute for accreditation of B&H. Revision 3 from 17.05.2016.
 23. Addendum to accreditation no. LI-58-01. 2013. Institute for accreditation of B&H. Revision 3 from 06.09.2016.
 24. Addendum to accreditation no. LI-45-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 19.07.2016.
 25. Addendum to accreditation no. LI-122-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 13.11.2017.
 26. Addendum to accreditation no. LI-125-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 01.06.2017.
 27. Addendum to accreditation no. LI-66-01. 2014. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 17.05.2016.
 28. Addendum to accreditation no. LI-91-01. 2014. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 07.04.2016.
 29. Addendum to accreditation no. LI-108-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 28.11.2016.
 30. Addendum to accreditation no. LI-44-01. 2015. Institute for accreditation of B&H. Revision from 22.02.2017.
 31. Addendum to accreditation no. LI-54-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 1 from 29.02.2016.

32. Addendum to accreditation no. LI-53-01. 2016. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 21.03.2016.
33. Addendum to accreditation no. LI-16-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revision 0 from 02.02.2018.
34. Law on accreditation of Bosnia and Herzegovina. 2001. Official Gazette of BiH. No. 19.
35. Law establishing the Institute for Accreditation of Bosnia and Herzegovina. 2002. Official Gazette of BiH. No 10.
36. Law on food. 2004. Official Gazette of BiH. No. 50
37. Law on food. 2017. Official Gazette of RS. No 19.
38. Rulebook on Sanitary Quality of Drinking Water. 2010. Official Gazette of BiH. No.40
39. Rulebook on Sanitary Quality of Drinking Water. 2015. Official Gazette of RS. No.75
40. Rulebook on the quality of honey products. 2016. Official Gazette of RS. No.14
41. Rulebook on the quality of raw milk. 2015. Official Gazette of RS. No.81
42. Rulebook on microbiological purity criteria. 2014. Official Gazette of RS. No.99
43. Rulebook on Maximum Permitted Quantities of Contaminants in Food. 2014. Official Gazette of BiH. No.68
44. Rulebook on Maximum Permissible Quantities of Pharmacologically Active Substances in Products of Animal Origin. 2011. Official Gazette of BiH. No. 61
45. Rulebook on honey and other bee products 2009. Official Gazette of BiH. No. 37
46. Rulebook on sampling and analytical methods for the implementation of official controls of animal feed. 2013. Official Gazette of BiH. No.65
47. Rulebook on Microbiological Criteria for Food. 2012. Official Gazette of RS. No.109
48. Rulebook on Microbiological Criteria for Food. 2013. Official Gazette of BiH. No.11
49. Rulebook on Microbiological Criteria for Animal Feedstuffs. 2012. Official Gazette of BiH. No.67
50. Rulebook on Microbiological Criteria for Food of Animal Origin 2012. Official Gazette of BiH. No.80
51. Rulebook on undesirable substances in animal feed. 2011. Official Gazette of BiH. No.72
52. Rulebook on Dairy Products and Starter-cultures. 2011. Official Gazette of BiH. No.21
53. Rulebook on raw milk. 2011. Official Gazette of BiH. No.21
54. Rulebook on chopped, semi-finished and finished meat products . 2013 Official Gazette of BiH. No. 82

55. Rulebook on minced, semi-finished and finished meat products. 2015. Official Gazette of RS. No.46
56. Accreditation system of Bosnia and Herzegovina. 2017. Institute for accreditation of Bosnia and Herzegovina. PD 05-01. Edition 31.
57. http://www.bata.gov.ba/Akreditirana_tijela/Spisak-akreditiranih-tijela.pdf (02.02.2018.)
58. <http://www.statistika.ba/>

Paper received: 24.1.2018.

Paper accepted: 21.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801038B

UDK: 636.3:616.34-008.89

Оригинални научни рад

УТИЦАЈ РАЗЛИЧИТИХ ТЕМПЕРАТУРА СКЛАДИШТЕЊА НА АКТИВНОСТ ГЛУТАТИОН ПЕРОКСИДАЗА ЕРИТРОЦИТА И ПЛАЗМЕ ОВАЦА*

Душан БОШЊАКОВИЋ^{1*}, Александра ПЕТРОВИЋ¹, Оливера ВАЛЧИЋ¹,
Иван ЈОВАНОВИЋ¹, Светлана МИЛАНОВИЋ¹

¹ Душан Бошњаковић, студент, Александра Петровић, студент, др Оливера Валчић, ванредни професор, др Иван Јовановић, редовни професор, др Светлана Милановић, доцент, Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду,

* коресподентни аутор: Милановић Светлана, cecam@vet.bg.ac.rs

Кратак садржај: Циљ рада је био да се утврди стабилност активности глутатион пероксидаза 1 и 3 током складиштења на температури +4 °C и -18°C. Крв је узета од осам оваца, а активност ензима је одређивана у плазми (GPx3) и еритроцитима (GPx1) првог, трећег, петог и седмог дана у узорцима чуваним на +4 °C и након једног и три месеца у узорцима чуваним на -18°C. Активност GPx3 је током складиштења на овим температурама статистички значајно опала док је активност GPx1 остала иста након три месеца чувања на температури -18°C. Резултати овог рада указују на то да се GPx3 мора одређивати у свежим узорцима плазме оваца, док се активност GPx1 еритроцита оваца може одређивати и након 3 месеца чувања на температури -18°C.

Кључне речи: активност, глутатион пероксидаза (GPx), овце, селенопротеини

УВОД

Метаболизам селена је врло комплексан јер је овај микроелемент за организам есенцијалан, али и потенцијално врло токсичан. Домаће и дивље животиње селен уносе преко хране. Садржај селена у хранивима биљног порекла зависи од неколико фактора: хе-

мијског облика селена у земљишту, количине у земљишту, врсте биљке, као и фазе раста саме биљке. У свету је дефинисано неколико селендефицичних подручја, а једно од њих је и део Балканског полуострва (Valčić и сар., 2013).

* Рад је презентован на 22. Годишњем савјетовању доктора ветеринарске медицине Републике Српске (БиХ) са међународним учешћем

Селен је есенцијални микроелемент са многоструким и врло важним улогама у организму. Његове физиолошке улоге директно су повезане са функцијама протеина у чији састав се котранслаторно уграђује путем нетипичне аминокиселине селеноцистеина.

До сада је откривено 26 селенопротеина сисара, а само за неке од њих је позната физиолошка улога. Први протеин за који је доказано да у свом саставу има уграђен селеноцистеин је глутатион пероксидаза (GPx) (Rotruck и сар., 1973; Flohe и сар., 1973). До сада је идентификовано 5 изоензимских форми GPx које редукују водоник пероксид и органске хидропероксиде, штитећи ћелије од оксидативног оштећења. Ова група селеноензима обухвата цитосолну глутатион пероксидазу (GPx1), гастроинтестиналну глутатион пероксидазу (GPx2), плазматску (екстрацелуларну) глутатион пероксидазу (GPx3), фосфолипид хидропероксид глутатион пероксидазу (GPx4) и новооткривену глутатион пероксидазу 6 из олфакторног епитела и ембрионалног ткива.

Постоје строги механизми регулације нивоа селена неопходног за оптималну експресију свих селенопротеина. Синтеза селенопротеина је регулисана нивоом селена у храни, али зависи и од ткива и од тога који је селенопротеин у питању. Није јасно на који начин ћелије и ткива дају приоритет за његову уградњу у одређене селенопротеине.

Глутатион пероксидаза 1 (GPx1) важан је ензим цитоплазме који редукује водоник пероксид и пероксиде слободних масних киселина и тиме смањује могућност оштећења ћелије услед оксидативног стреса. Врло је осетљива на промене статуса селена, при чему код селендефицичних јединки пада ниво информационе iRNK и самог протеина. С обзиром на то да је глутатион пероксидаза селеноензим и да њена активност до извесне границе линеарно зависи од количине селена у храни, активност овог ензима може бити добар показатељ статуса селена у организму. Осим тога, GPx1 еритроцита представља добар параметар за процену статуса селена јединки у дужем временском периоду, јер се ензим синтетише само у периоду еритропоезе.

Глутатион пероксидаза 3 (GPx3) једини је ензим из фамилије глутатион пероксидаза који се лучи у међућелијски простор. Супстрат за овај ензим су водоник пероксид, хидропероксиди масних киселина, фосфолипидни хидропероксиди, а има значајну улогу у антиоксидативним процесима у крвној плазми (Brigelius-Flohe, 1999). Главни извор екстрацелуларне GPx3 су бубрези, а синтетишу је епителне ћелије проксималних тубула нефрона и париеталне ћелије Боуманове капсуле (Yoshimura и сар., 1991). Како активност овог ензима опада и до 99% у случају дефицита селена, и GPx3 се широко користи у процени статуса селена. Такође, активност овог ензима се користи за процену статуса селена у краћем временском периоду јер ћелије које

синтезишу овај ензим врло брзо обустављају синтезу у условима дефицита.

Дакле, активности GPx1 и GPx3 представљају одличне биомаркере за процену статуса селена. Међутим, некада је немогуће одређивање њихове

активности у свеже узетим узорцима крви, нарочито ако јединке потичу са различитих локалитета. Зато смо сматрали да је неопходно утврдити адекватан начин чувања узорака до одређивања активности.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У циљу испитивања активности GPx из крвне плазме (GPx3) и цитосола еритроцита (GPx1) коришћена је крв узета венепункцијом *v. jugularis* оваца. Крв је узета од осам оваца, оба пола, а јединке су држане у фармским условима. Као антикоагулационо средство коришћен је хепарин (12 IU/mL крви). Крв је центрифугована у трајању од 15 минута на 1000 x г, како би се издвојила крвна плазма. Након одвајања крвне плазме, еритроцити су испирани физиолошким раствором и центрифугирани 3 пута. Узорци крвне плазме и узорци еритроцита су чувани на температури +4 °C током седам дана и на -18 °C током три месеца. Активност глутатион пероксидаза (GPx1 и GPx3) мерена је првог, трећег, петог и седмог дана након стајања на температури +4

°C, као и месец дана и три месеца након чувања на -18 °C.

Одређивање активности глутатион пероксидазе

Активност цитосолне глутатион пероксидазе (GPx1) и глутатион пероксидазе крвне плазме (GPx3) одређивана је методом по Günzler и сар. (1974) на спектрофотометру Cecil 2000, са воденим купатилом и термостатом који је одржавао константну температуру од 37 °C. Принцип овог мерења заснован је на спектрофотометријском регистровању потрошње NADPH у куплованом ензимском систему.

Састав, као и коначне концентрације реагенаса, приказани су у табели 1.

Табела 1. Састав реагенаса који су коришћени за спектрофотометријско одређивање активности GPx

Реагенси	Запремина (μl)	Коначна концентрација
Калијум фосфатни пуфер (400 mmol/L, pH 7)	500	100 mmol/L
GSH (604 mmol/L)	200	4 mmol/L
Глутатион редуктаза (GR)	50	6 mmol/L

Крвна плазма; хемолизовани еритроцити (разбл. 21х)	20; 10	0,375 IJ/mL
NADPH	200	0,3 mmol/L
TBN	550	1,575 mmol/L
Редестилована вода	480; 490	

Статистичка обрада података

За статистичку обраду података коришћени су програми MS Excel 2007 и GraphPadPrism5. Резултати су приказани коришћењем параметара дескриптивне статистике (Хср, СД и КВ).

Статистичка значајност разлике добијених вредности између појединих група одређивана је Студентовим т-тестом, за нивое значајности $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$.

РЕЗУЛТАТИ

Одређивањем активности GPx3 крвне плазме оваца, већ трећег дана након чувања на температури од 4 °C утврђен је статистички значајан пад активности, што је приказано у табели 2. Чување узорака крвне плазме на

температури -18 °C, довело је након месец дана до статистички значајног пада активности овог ензима, а након 3 месеца у узорцима није забележена активност (Табела 4).

Табела 2. Активност GPx3 из плазме оваца након 1,3,5 и 7 дана чувања на температури +4 °C (μKat)

	Дани			
	1	3	5	7
Хср±СД	5,57±0,52	1,39±0,38**	0,89±0,39**	0,55±0,27**
КВ	9,38	27,57	43,36	49,23

** $p < 0,01$ у односу на активност одређену 1. дана

Хср – аритметичка средина

СД – стандардна девијација

КВ – коефицијент варијације

Активност цитосолне GPx1 у еритроцитима, при чувању на +4 °C, раста је током времена и на почетку посматраног периода износила је 1370 μ Kat, а након седам дана 2370 μ Kat

(Табела 3). При чувању на -18 °C, током посматраног периода од три месеца, активност се није статистички значајно мењала (Табела 4).

Табела 3. Активност GPx1 из еритроцита оваца након 1,3,5 и 7 дана након чувања на температури +4 °C (μ Kat)

	Дани			
	1	3	5	7
Хср$\pm$СД	1369$\pm$367	1771$\pm$265**	1863$\pm$247**	2369$\pm$308**
КВ	26,85	14,98	13,26	13,00

** p<0,01

Хср – аритметичка средина

СД – стандардна девијација

КВ – коефицијент варијације

Табела 4. Активност GPx3 крвне плазме и GPx1 из еритроцита оваца након 1 и 3 месеца чувања на -18 °C (μ Kat)

	GPx3		GPx1	
	1 месец	3 месеца	1 месец	3 месеца
Хср$\pm$СД	2,69$\pm$1,14	/	1388$\pm$337	1334$\pm$141
КВ	42,30	/	24,32	10,58

** p<0,01

Хср-аритметичка средина

СД-стандардна девијација

КВ-коефицијент варијације

ДИСКУСИЈА И ЗАКЉУЧАК

Одређивање активности ензима глутатион пероксидаза значајно је ради процене статуса селена јединки, што је од посебног значаја код јединки које се екстензивно гаје, а нарочито у подручјима која су сиромашна селеном, као што су неке области Балканског полуострва (Валчић и сар). Узорковање материјала ради испитивања активности овог ензима често обухвата вишемесечни период, са немогућношћу одређивања ензимске активности одмах након узорковања, као ни одмах по пријему узорка у лабораторију. За чување биолошког материјала могу се користити различите температуре. Успешност чувања зависиће од неколико фактора као што су температура складиштења, врста биолошког материјала и природа супстанце која се испитује. Снижене температуре користе се и за складиштење узорка у којима се након одређеног времена може испитивати активност ензима. Циљ овог рада био је да се утврди да ли се јавља промена активности GPx3 и GPx1 у току складиштења крвне плазме и еритроцита оваца на температури од +4°C током недељу дана, као и након једног и три месеца на температури -18°C. Активност GPx3 код оваца драматично је опала већ након 3 дана. Мало је резултата са којима бисмо упоредили наше резултате. Студије су углавном рађене на хуманом материјалу. Тако, активност GPx3 из хумане плазме опада тек након 8. дана (Ogunro i sар., 2010). Више аутора наводи да актив-

ност GPx1 опада тек након 7 дана складиштења (Deuhim и сар., 2014; Marjani и сар., 2007; Aslan и сар., 1997; Jozwik и сар., 1997). Према нашим резултатима активност глутатион пероксидазе у еритроцитима оваца (GPx1) не опада значајно у току првих 7 дана складиштења, штавише, у нашим узорцима се током чувања повећала активност GPx1, што је у складу са резултатима Harapin и сар., (2008). Како испране еритроците нисмо одмах након испирања аликвотирали, већ смо их оставили у епруветама из којих смо свака два дана узимали узорак за испитивање, могуће да је ова појава последица таложења еритроцита током чувања те да је у каснијим испитивањима истих узорка било више еритроцита у истој запремини узорка, а самим тим и више ензима. Shepard и Millar (1981) су добили пад активности у хемолизатима еритроцита током чувања на +4°C, док је у узорцима еритроцита активност порасла, те су наши резултати у том смислу у складу са наведеним резултатима. И замрзавање на температуру -18°C различито је деловало на активност GPx3 и GPx1. Тако се активност GPx1 очувала и након три месеца складиштења, док је активност GPx3 након истог периода била немерљива. Harapin и сар. (2008) препоручују да се активност пероксидаза одређује у свежим узорцима, најкасније након два дана или да се чувају на температури -18°C. На основу изведених испитивања може се донети закључак да активност GPx3 из

плазме оваца значајно опада у току чувања на +4 °C у току 7 дана, те се мора одређивати у току првих 24 сата од вађења крви. Узорке еритроцита би требало одмах аликвотирати на тачно

одређену запремину која би се након чувања цела употребила за испитивање активности ензима. На овај начин би се избегао утицај таложења еритроцита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aslan R., Sekeroğlu M.R., Tarakçioğlu M., Köylü H. (1997): Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. *Haematologia* (Budap) 28, 233–7.
2. Deyhim M.R., Navabi Z., Jalili M.A., Maghsoudloo M., Khoshnaghsh F. (2014): Alternation in erythrocyte enzyme antioxidant activity during blood storage. *Iranian J Blood Cancer* 6, 69–74.
3. Flohé L. (1987): The selenoprotein glutathione peroxidase in Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects —Part A. New York, John Wiley & Sons, Inc,
4. Forstrom J.W., Zakowski J.J., Tappel A.L. (1978): Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry*, 17, 2639–2644.
5. Günzler W.A., Steffens G.J., Grossman A., Kim S.M.A., Otting F., Wendel A., Flohe L. (1974): The aminoacid sequence of a bovine glutathione peroxidase. *Physiol Chem*, 365, 195.
6. Harapin I., Bedrica Lj., Gračner D., Capak D., Benić M., Petrešević B. (2008): Activity of glutathione peroxidase in cattle blood under different storage conditions. *Veterinarski arhiv*, 78, 387–392.
7. Jó wik M., Szczypka M., Gajewska J., Laskowska-Klita T. (1997): Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood. *Clin Chim Acta*, 267, 129–42
8. Kryukov G.V., Castellano S., Novoselov S.V., Lobanov A.V., Zehtab O., Guigo R., Gladyshev V.N. (2003): Characterization of mammalian selenoproteomes, *Science*, 300, 1439–1443.
9. Lobanov A.V., Hatfield D.L., Gladyshev V.N. (2009): Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochim Biophys Acta* 1790: 1424–1428.
10. Marjani A., Moradi A., Ghourcaie A. (2007): Alteration in plasma lipid peroxidation and erythrocyte superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme activities during storage of blood. *Asian J Biochem*, 2, 118–23.
11. Ogunro P.S., Ogungbamigbe T.O., Muhibi M.A. (2010): The influence of storage period on the antioxidants level of red blood cells and the plasma before transfusion. *Afr J Med Med Sci*, 39, 99–104.

12. Millar K.R. (1981): Stability of glutathione peroxidase in ovine blood samples under various storage conditions and the response of this enzyme to different methods of selenium supplementation, *New Zealand Veterinary Journal*, 29(5), 77–80.
13. Sunde R.A. (2006): Regulation of glutathione peroxidase-1 expression. In: Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN, editors. *Selenium: its molecular biology and role in human health*. 2nd ed. New York: Springer Science Media; p. 149–60.
14. Takahashi K., Akasaka M., Yamamoto Y., Kobayashi C., Mizoguchi J., Koyama J. (1990): Primary structure of human plasma glutathione peroxidase deduced from cDNA sequences. *J Biochem (Tokyo)*, 108, 145–148.
15. Thomas J.P., Girotti A.W. (1988): Photooxidation of cell membranes in the presence of hematoporphyrin derivative: reactivity of phospholipid and cholesterol hydroperoxides with glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta*, 962, 297–307.
16. Valčić Olivera, Jovanović I., Milanović Svetlana, Gvozdić D. (2013): Selenium status of feedstuffs and grazing ewes in Serbia, *Acta veterinaria*, 63(5–6), 665–675.
17. Wingler K., Brigelius-Flohe R. (1999): Gastrointestinal glutathione peroxidase, *Biofactors*, 10, 245–249.

Рад примљен: 4.7.2018.

Рад прихваћен: 12.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801038B

UDK: 636.3:616.34-008.89

Original scientific paper

THE EFFECTS OF DIFFERENT STORING TEMPERATURES ON THE ACTIVITY OF SHEEP BLOOD AND PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE*

Dušan BOŠNJAKOVIĆ^{1*}, Aleksandra PETROVIĆ¹, Olivera VALČIĆ¹, Ivan JOVANOVIĆ¹, Svetlana MILANOVIĆ¹

1 Dušan Bošnjaković, student, Aleksandra Petrović, student, dr Olivera Valčić, Associate Professor, dr Ivan Jovanović, Full Professor, dr Svetlana Milanović, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Serbia

* corresponding author: Svetlana Milanovic, cecam@vet.bg.ac.rs

Abstract: The aim of the study was to determine the stability of the activity of glutathione peroxidases 1 and 3 during storage at +4°C and -18°C. Blood samples were taken from eight sheep and the activity of the enzyme was determined in the plasma (GPx3) and erythrocytes (GPx1) on the first, third, fifth and seventh day in samples stored at +4°C and after one and three months in samples stored at -18°C. GPx3 activity decreased significantly during storage at both temperatures, while GPx1 remained steady even after three months of storage at -18°C. Obtained results indicate that GPx3 activity has to be determined in fresh sheep plasma samples, while the activity of sheep erythrocyte GPx1 can be determined even after 3 months of storage at -18°C.

Key words: activity, glutathione peroxidase (GPx), sheep, selenoproteins

INTRODUCTION

Selenium metabolism is very complex because this microelement is essential for the organism but at the same time potentially very toxic. Domestic and wild animals take selenium through food. The level of selenium in plant nutrients depends on several factors:

the chemical form of selenium in the soil, the quantities in the soil, the plant species and the growth stage of the plant itself. Several selenium-deficient areas have been defined in the world, and one of them is part of the Balkan Peninsula (Valčić et al., 2013).

* Work is presented on the 22nd Annual Counselling of Doctors of Veterinary Medicine of Republic of Srpska (Bosnia and Herzegovina) With International Participation

Selenium is an essential microelement with multiple and very important roles in the body. Its physiological roles are directly related to the functions of the protein and it is incorporated in protein composition through atypical amino acid of selenocysteine.

26 selenoproteins have so far been identified in mammals and their physiological function is known only for some of them. The first protein that has been proven to have selenocysteine in its composition is glutathione peroxidase (GPx) (Rotruck et al., 1973; Flohe et al., 1973). So far, 5 isoenzymatic GPx formats have been identified that reduce hydrogen peroxide and organic hydroperoxes, protecting cells from oxidative damage. This group of selenoenzymes includes cytosolic glutathione peroxidase (GPx1), gastrointestinal glutathione peroxidase (GPx2), plasma (extracellular) glutathione peroxidase (GPx3), phospholipid glutathione peroxidase (GPx4) and new-found glutathione peroxidase 6 from olfactory epithelium and embryonic tissue.

There are strict mechanisms for regulation of selenium levels necessary for optimum expression of all selenoproteins. The selenoprotein synthesis is regulated by the level of selenium in the food, but it also depends on the tissue and the type of selenoprotein. It is not clear how the cells and tissues give priority to its incorporation into certain selenoproteins.

Glutathione peroxidase 1 (GPx1) is an important cytoplasmic enzyme

that reduces hydrogen peroxide and peroxides of free fatty acids, diminishing the possibility of damage to the cell due to oxidative stress. It is very sensitive to changes in selenium status and the level of informational iRNA and the protein itself decreases in individuals with selen deficiency. Since glutathione peroxidase is seleno-enzyme and its activity to a certain extent linearly depends on the amount of selenium in the food, the activity of this enzyme can be a good indicator of the status of selenium in the body. In addition, GPx1 erythrocyte is a good parameter for assessing the status of selenium for a longer period of time because the enzyme is synthesized only during the erythropoiesis.

Glutathione peroxidase 3 (GPx3) is the only enzyme in the glutathione peroxidase family that secretes into the intercellular space. Hydrogen peroxide, hydroperoxides of fatty acids, phospholipid hydroperoxides are substrates for this enzyme are, and it plays a significant role in antioxidative processes in the blood plasma (Brigelius-Flohe, 1999). The main source of extracellular GPx3 are kidneys, and the epithelial cells of proximal tubules of nephron and parietal cells of the Bowman capsule (Yoshimura et al., 1991) are synthesized. As the activity of this enzyme decreases to 99% in the case of selenium deficiency, GPx3 is widely used in the evaluation of selenium status. Also, the activity of this enzyme is used to evaluate selenium status over a short period of time because the cells synthesizing this enzyme very quickly

stop the synthesis in the conditions of the deficit.

Therefore, GPx1 and GPx3 activities are excellent biomarkers for assessing the status of selenium. However, it is sometimes impossible to determine their

activity in newly sampled blood samples, especially if individuals originate from different locality. Therefore we considered it necessary to establish an adequate way of storing samples until determining the activity.

MATERIAL AND METHODS

In order to investigate the activity of GPx from blood plasma (GPx3) and erythrocyte cytosol (GPx1), blood was taken by venipuncture of v. jugularis sheep. The blood was taken from eight sheep, both sexes, and they were kept under farm conditions. Heparin (12 IU / ml blood) was used as an anticoagulation agent. The blood was centrifuged for 15 minutes on 1000 x g to separate blood plasma. After separation of blood plasma, the erythrocytes were washed with a physiological solution and centrifuged for 3 times. Blood plasma samples and erythrocyte samples were stored at +4 0C for seven days and at -18 0C for three months. The activity of glutathione peroxidase (GPx1 and GPx3) was measured on the first, third, fifth and seventh days after storage at a temperature of +4 0C, and again after a

month and three months storage at -18 0C.

Determination of glutathione peroxidase activity

The activity of cytosolic glutathione peroxidase (GPx1) and glutathione peroxidase of blood plasma (GPx3) was determined by the method according to Günzler et al. (1974) on the Cecil 2000 spectrophotometer, with a water bath and a thermostat that maintained a constant temperature of 37 oC. The principle of this measurement is based on the spectrophotometric registering of NADPH consumption in the coupled enzymatic system.

The composition as well as the final reagent concentrations are shown in Table 1.

Table 1. Composition of reagents used for spectrophotometric determination of GPx activity

Reagents	Volume(μl)	Final concentration
Potassium phosphate buffer (400 mmol/L, pH 7)	500	100 mmol/L
GSH (604 mmol/L)	200	4 mmol/L
Glutathione reductase (GR)	50	6 mmol/L

Blood plasma; hemolyzed erythrocytes (разбл. 21х)	20; 10	0,375 IJ/mL
NADPH	200	0,3 mmol/L
TBH	550	1,575 mmol/L
Redistilled water	480; 490	

Statistical data processing

For statistical data processing, MS Excel 2007 and GraphPadPrism5 programs were used. The results are presented using the descriptive statistics parameters (Xsr, SD and KV). The

statistical significance of the difference in the obtained values between individual groups was determined by Student's t-test, for levels of significance $p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$.

RESULTS

By determination of GPx3 blood plasma activity of the sheep, on the third day after storage at a temperature of 4 oC, a statistically significant decline in activity was determined as shown in

Table 2. The storage of blood plasma samples at -18 oC led to a statistically significant enzyme activity decline, and after 3 months no activity was recorded in the samples (Table 4).

Table 2. Activity of GPx3 from sheep plasma after 1,3,5 and 7 days of storage at +4 oC (μ Kat)

	Days			
	1	3	5	7
Xm$\pm$SD	5,57$\pm$0,52	1,39$\pm$0,38**	0,89$\pm$0,39**	0,55$\pm$0,27**
CV	9,38	27,57	43,36	49,23

** $p < 0,01$ in relation to activity determined on Day 1

Xm- arithmetic mean

SD- standard deviation

CV- coefficient of variation

The activity of cytosolic GPx1 in erythrocytes during storage at +4 oC increased over time and at the beginning of the observed period it was 1370 μ Kat, and after seven days 2370 μ Kat (Table

3). For storage at -18 oC, during the observed period of three months, there was not statistically significant change in activity (Table 4).

Table 3. Activity of GPx1 from sheep erythrocytes after 1,3,5 and 7 days after storage at +4 oC temperature (μ Kat)

	1	3	5	7
Xm$\pm$SD	1369$\pm$367	1771$\pm$265**	1863$\pm$247**	2369$\pm$308**
CV	26,85	14,98	13,26	13,00

** p<0,01

Xm- arithmetic mean

SD- standard deviation

CV- coefficient of variation

Table 4. Activity of GPx3 blood plasma and GPx1 from sheep erythrocyte after 1 and 3 months of storage at -18 oC (μ Kat)

	GPx3		GPx1	
	1month	3 months	1 month	3 months
Xm$\pm$SD	2,69$\pm$1,14	/	1388$\pm$337	1334$\pm$141
CV	42,30	/	24,32	10,58

** p<0,01

Xm- arithmetic mean

SD- standard deviation

CV- coefficient of variation

DISCUSSION AND CONCLUSION

Determination of the activity of glutathione peroxidase enzyme is important for assessing the status of selenium in individuals, which is of particular importance to individuals who are extensively cultivated, and especially in areas that are poor in selenium, such as some areas of the Balkan Peninsula (Valčić and sar). Sampling of materials to investigate the activity of this enzyme

often involves a period of several months, with the impossibility of determining the enzymatic activity immediately after sampling, or immediately after storing the samples in the laboratory. Different temperatures can be used for storing biological material. The storage efficiency will depend on several factors, such as storage temperature, the type of biological material and the nature

of the substance to be tested. Reduced temperatures are also used for the storage of samples in which enzyme activity can be investigated after a certain time. The aim of this paper was to determine if there is a change in the activity of GPx3 and GPx1 during storage of blood plasma and erythrocytes of sheep at a temperature of + 4 ° C for a week, and after one and three months at a temperature of -18 ° C. The activity of GPx3 in sheep has dropped dramatically after 3 days. There are few results to be compared to our results. Studies were mainly done on human material. The activity of GPx3 from human plasma decreases only after 8 days (Ogunro et al., 2010). Several authors state that GPx1 activity declines after 7 days of storage (Deuhim et al., 2014; Marjani et al., 2007; Aslan et al., 1997; Jozwik et al., 1997). According to our results, the activity of glutathione peroxidase in sheep erythrocytes (GPx1) does not decline significantly during the first 7 days of storage, moreover, in our samples, the activity of GPx1 increased in accordance with the results of Harapin et al. (2008). As we didn't aliquot the erythrocytes immediately after rinsing, but we left them in the tubes from which we took a sample every two days, it is possible that this phenomenon is a consequence

of the erythrocyte sedimentation during storage, and that in subsequent studies of the same samples there would be more erythrocytes in the same volume sample, and therefore more enzymes. Shepard and Millar (1981) had a decrease in activity in erythrocyte hemolysates during storage at + 4 ° C, while the erythrocyte activity increased, and our results in this respect are consistent with their results. Freezing to -18 ° C affected the activity of GPx3 and GPx1 differently. GPx1 activity was maintained after three months of storage while GPx3 activity after the same period was immeasurable. Harapin et al. (2008) recommend that the peroxidase activity should be determined in fresh samples, after two days at the latest or at a storage temperature of -18 ° C. Based on the performed studies, it can be concluded that the activity of GPx3 from sheep plasma significantly decreases during storage at +4 °C for 7 days and must be determined within the first 24 hours of blood extraction. The erythrocyte samples should be instantly aliquotted to a precisely determined volume that would be used for the enzyme activity after storage. In this way, the effect of sedimentation of erythrocytes will be avoided.

REFERENCES

1. Aslan R., Sekeroğlu M.R., Tarakçıoğlu M., Köylü H. (1997): Investigation of malondialdehyde formation and antioxidant enzyme activity in stored blood. *Haematologia* (Budap) 28, 233-7
2. Deyhim M.R., Navabi Z., Jalili M.A., Maghsoudloo M., Khoshnaghsh F. (2014): Alternation in erythrocyte enzyme antioxidant activity during blood storage. *Iranian J Blood Cancer* 6, 69-74
3. Flohé L. (1987): The selenoprotein glutathione peroxidase in Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects —Part A. New York, John Wiley & Sons, Inc,
4. Forstrom J.W., Zakowski J.J., Tappel A.L. (1978): Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry*, 17, 2639–2644.
5. Günzler W.A., Steffens G.J., Grossman A., Kim S.M.A., Otting F., Wendel A., Flohe L. (1974): The aminoacid sequence of a bovine glutathione peroxidase. *Physiol Chem*, 365, 195.
6. Harapin I., Bedrica Lj., Gračner D., Capak D., Benić M., Petrešević B. (2008): Activity of glutathione peroxidase in cattle blood under different storage conditions. *Veterinary archives*, 78, 387-392.
7. Jó wik M., Szczypka M., Gajewska J., Laskowska-Klita T. (1997): Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood. *Clin Chim Acta*, 267, 129-42
8. Kryukov G.V., Castellano S., Novoselov S.V., Lobanov A.V., Zehtab O., Guigo R., Gladyshev V.N. (2003): Characterization of mammalian selenoproteomes, *Science*, 300, 1439–1443.
9. Lobanov A.V., Hatfield D.L., Gladyshev V.N. (2009): Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochim Biophys Acta* 1790: 1424–1428
10. Marjani A., Moradi A., Ghourcaie A. (2007): Alteration in plasma lipid peroxidation and erythrocyte superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme activities during storage of blood. *Asian J Biochem*, 2, 118-23.
11. Ogunro P.S., Ogungbamigbe T.O., Muhibi M.A. (2010): The influence of storage period on the antioxidants level of red blood cells and the plasma before transfusion. *Afr J Med Med Sci*, 39, 99-104.
12. Millar K.R. (1981): Stability of glutathione peroxidase in ovine blood samples under various storage conditions and the response of this enzyme to different methods of selenium supplementation, *New Zealand Veterinary Journal*, 29(5), 77-80.
13. Sunde R.A. (2006): Regulation of glutathione peroxidase-1 expression. In: Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN, editors. *Selenium: its molecular biology*

- and role in human health. 2nd ed. New York: Springer Science Media; p. 149–60.
14. Takahashi K., Akasaka M., Yamamoto Y., Kobayashi C., Mizoguchi J., Koyama J. (1990): Primary structure of human plasma glutathione peroxidase deduced from cDNA sequences. *J Biochem (Tokyo)*, 108, 145–148.
 15. Thomas J.P., Girotti A.W. (1988): Photooxidation of cell membranes in the presence of hematoporphyrin derivative: reactivity of phospholipid and cholesterol hydroperoxides with glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta*, 962, 297–307.
 16. Valčić Olivera, Jovanović I., Milanović Svetlana, Gvozdić D. (2013): Selenium status of feedstuffs and grazing ewes in Serbia, *Acta veterinaria*, 63(5-6), 665–675.
 17. Wingler K., Brigelius-Flohe R. (1999): Gastrointestinal glutathione peroxidase, *Biofactors*, 10, 245–249.

Paper received: 04.7.2018.

Paper accepted: 12.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801054V

UDK: 636.592.082.474

Originalni naučni rad

UTICAJ MASE RASPLODNIH JAJA RODITELJSKOG JATA TEŠKOG LINIJSKOG HIBRIDA NA REZULTATE INKUBACIJE

Marinko VEKIĆ^{1*}, Mirjana MITRAKOVIĆ², Đorđe SAVIĆ¹

1 Marinko Vekić, ma, viši asistent; dr Đorđe Savić, docent, Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, Univerzitetski grad, Bulevar vojvode Petra Bojovića 1A, 78.000 Banja Luka

2 Mirjana Mitraković, dipl. inženjer, Avis DM, Danka Mitrova bb, 78.420 Srbac

* Korespondentni autor: Marinko Vekić, marinko.vekic@agro.unibl.org

Kratak sadržaj: Cilj rada bio je da se ispituju vrijednosti parametara inkubacije (gubitak mase, oplodjenost, valivost uložених i oplodjenih jaja, te ukupan, rani, srednji i kasni embrionalni mortalitet) rasplodnih jaja različite mase teškog linijskog hibrida Cobb 500. Ukupno je ispitano 600 jaja podijeljenih u četiri jednake grupe (n=150) prema njihovoj masi: 57,5 – 62,5 (S); 62,6 – 67,5 (M); 67,6 – 72,5 (L) i 72,6 – 77,50 g (XL), a vrijednosti parametara inkubacije određene su i statistički obrađene standardnim metodama. Masa jaja uticala je statistički značajno na gubitak mase jaja tokom inkubacije ($p < 0,05$), pri čemu je taj gubitak bio veći kod jaja manje (grupa S 11,10% i grupa M 11,40%) u odnosu na jaja veće mase (grupa L 10,42% i grupa XL 10,31%). Valivost uložених jaja u grupama S, M, L i XL iznosila je 76,0; 75,3; 78,7 i 66,0%, redom, a oplodjenih 82,0; 81,3; 82,5 i 71,7%, redom, pri čemu nije ustanovljena statistički značajna razlika ($p > 0,05$). Masa jaja nije statistički značajno uticala na razliku u vrijednostima mortaliteta embriona, iako je kod jaja grupe XL ustanovljena viša vrijednost ukupnog, ranog i kasnog mortaliteta u odnosu na ostale grupe jaja. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na niže vrijednosti valivosti i viši mortalitet embriona u inkubaciji jaja izrazito velike mase u odnosu na ostale grupe, zbog čega izboru jaja za nasad treba posvetiti posebnu pažnju i u pogledu mase.

Ključne riječi: rasplodna jaja, masa jaja, inkubacioni parametri

UVOD

Masa jaja ubraja se u pokazatelje ljuske (King'ori, 2012). Navedeni spoljašnjeg kvaliteta, zajedno sa pokazatelji jednako su važni u procjeni indeksom oblika, te masom, debljinom, kvaliteta konzumnih i rasplodnih jaja. čvrstoćom, gustinom, bojom i čistoćom Uspjeh inkubacije rasplodnih jaja teškog

линијског хибрида, мјерен процентом валивости и квалитетом излеђених пилића, поред дужине и услова складиштења (Fasenko, 2007), те услова инкубације (Molenaar i sar., 2010), у значајној мјери може бити одређен квалитетом инкубираних јаја (King'ori, 2011). Тријажом расплодних јаја prije ulaganja инкубације одстранјују се јаја која не задовољавају критеријуме, углавном због лошег квалитета лјуске (нпр. неправилан облик, физичка оштећења, запрљаност), али и јаја изразито мале или велике масе (Bell i Weaver, 2002). Маса јаја и резултати инкубације у директном су међуоднос, тако да валивост јаја изразито мале и изразито велике масе има relativно ниже вриједности у односу на јаја средње или просјечне масе опсега 55–65 g (Bell i Weaver, 2002). Маса расплодних јаја тешког линијског хибрида има trend повећања током периода експлоатације, односно са добом родитељских носиља (Ђермановић i sar, 2010) на што могу утицати и бројни фактори генетске и парagenетске природе (King'ori, 2012). Kumpula (2004) nije ustanovio razliku u oplodjenosti i valivosti među tri težinske grupe јаја поријеком од два комерцијална тешка линијска хибрида. Међутим, исти аутор је установио већи проценат пилића прве класе у групи sitnih i srednjih јаја, i значајно виши проценат касног ембрионалног mortalитета i пилића друге класе у групи крупних јаја. Iqbal i sar. (2016) su utvrdili razlike u procentu oplodjenosti i valivosti јаја комерцијалног хибрида различите масе, тако да су највишу оплођеност i валивост имала јаја најмање масе, потом средња i крупна јаја, a највиши ембрионални mortalitet i

najnižu oplodjenost крупна јаја, потом средња i sitna јаја. Bolju oplodjenost i valivost uložених sitnih u односу на средња i крупна јаја тешког линијског хибрида opisали су i Malik i sar. (2015). Виши проценат касног ембрионалног mortalитета у групи крупних јаја, u односу на средња i sitna јаја, без разлике u осталим показатељима валивости opisали су Ulmer-Franco i sar. (2010) i Gahri i sar. (2015), dok Ramaphala i Mbajorgu (2013) nisu utvrdili uticaj масе јаја на валивост. Relativно виши проценат губитка масе u инкубацији sitnih u односу на средња или крупна јаја установили су Kumpula (2004), Ulmer-Franco i sar. (2010) i Gahri i sar. (2015), dok se taj губитак међу три тежинске групе јаја u истраживању које су спровели Duman i ekero lu (2017) nije statističки значајно razlikovao. Uticaj масе јаја на резултате инкубације u полуинтензивном гајењу аутохтоних раса kokoši, prema Abudabos i sar. (2017), nije bio konzistentan, dok Singh i sar. (2017) nisu uopšte uočili uticaj маса јаја на резултате инкубације.

Cilj rada bio je da se na osnovu tehnoloških показатеља инкубације (губитак масе јаја, проценат оплођености, валивости uložених i оплођених јаја, те проценат ukupног, раног, средњег i касног ембрионалног mortalитета) установи uticaj различите масе расплодних јаја поријеклом из родитељског јата тешког линијског хибрида на крајње резултате инкубације.

MATERIJAL I METOD RADA

Istraživanje je provedeno na komercijalnoj farmi roditeljskog jata teškog linijskog hibrida Cobb 500 i komercijalnoj inkubatorskoj stanici, na uzorku od 600 rasplodnih jaja. Jaja su poticala od roditeljskog jata, starosti 52 nedjelje, i bila su snesena, sakupljena i dopremljena u skladište inkubatorske stanice istog dana, a potom skladištena četiri dana u kartonskoj ambalaži do početka inkubacije. Prikupljena jaja klasifikovana su u grupe prema njihovoj masi, pojedinačnim mjerenjem pomoću tehničke vage (0,01 g) neposredno pred inkubaciju, nakon čega su označena i zavisno od izmjerene mase raspoređena u jednu od četiri grupe: 57,5 – 62,5 g (S), 62,6 – 67,5 g (M), 67,6 – 72,5 g (L) i 72,6 – 77,50 g (XL). Uslovi predgrijavanja i inkubacije jaja pratili su standardnu tehnologiju rada za dati hibrid u komercijalnoj inkubatorskoj stanici i bili su identični za sve grupe u istraživanju.

Podaci dobijeni individualnim mjerenjem mase jaja prije ulaganja u predvalionik i kod prelaganja u valionik poslužili su za izračunavanje procenta gubitka mase (GM):

$GM = ((\text{masa jaja prije ulaganja} - \text{masa jaja 18. dana inkubacije}) / \text{masa jaja prije ulaganja}) \times 100.$

Pregledom valioničkog ostatka određeni su: broj oplođenih i neoplođenih jaja; broj izleženih pilića, te broj embriona uginulih u prvoj (rani), drugoj (srednji) i trećoj nedjelji inkubacije (kasni mortalitet) na osnovu čega su izračunati sljedeći parametri inkubacije:

Oplođenost jaja (O, %)

$O = (\text{broj oplođenih jaja} / \text{ukupan broj jaja}) \times 100;$

valivost uložених jaja (Vu, %)

$Vu = (\text{broj izleženih pilića} / \text{ukupan broj jaja}) \times 100;$

valivost oplođenih jaja (Vo, %)

$Vo = (\text{broj izleženih pilića} / \text{broj oplođenih jaja}) \times 100;$

ukupan embrionalni mortalitet (UM, %)

$UM = (\text{broj uginulih embriona} / \text{broj oplođenih jaja}) \times 100;$

rani embrionalni mortalitet (RM, %)

$RM = (\text{broj embriona uginulih do 7. dana inkubacije} / \text{broj oplođenih jaja}) \times 100;$

srednji embrionalni mortalitet (SM, %)

$SM = (\text{broj embriona uginulih 8 – 14. dana inkubacije} / \text{broj oplođenih jaja}) \times 100$

kasni embrionalni mortalitet (KM, %)

$KM = (\text{broj embriona uginulih 15 – 21. dana inkubacije} / \text{broj oplođenih jaja}) \times 100.$

Statistička obrada podataka za gubitak mase jaja tokom inkubacije izvedena je analizom varijanse na nivou značajnosti $p < 0,05$, a za vrijednosti valivosti i mortaliteta pomoću χ^2 testa na nivou značajnosti $p < 0,05$.

РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА I ДИСКУСИЈА

Gubitak mase rasplodnih jaja tokom inkubacije prikazan je u tabeli 1.

Tabela 1. Gubitak mase rasplodnih jaja tokom inkubacije (prosječna vrijednost $\pm$ stand. greška)

Grupa	Masa uloženih jaja (g)	Masa jaja 18. dana (g)	Gubitak mase (%)
S	61,27 ^d ($\pm 0,19$)	54,47 ^d ($\pm 0,24$)	11,10 ^a ($\pm 0,24$)
M	65,45 ^c ($\pm 0,24$)	57,99 ^c ($\pm 0,30$)	11,40 ^a ($\pm 0,28$)
L	69,83 ^b ($\pm 0,22$)	62,56 ^b ($\pm 0,29$)	10,42 ^b ($\pm 0,25$)
XL	74,19 ^a ($\pm 0,25$)	66,54 ^a ($\pm 0,35$)	10,31 ^b ($\pm 0,34$)

^{abc} – vrijednosti u istoj koloni obilježene različitim slovom su statistički značajno različite ($p < 0,05$)

Najveći gubitak mase jaja tokom inkubacije (11,40%) u ovom istraživanju ustanovljen je u grupi M, a najmanji (10,31%) u grupi XL. Vrijednosti gubitka mase jaja tokom inkubacije u grupama S i M bile su značajno ($p < 0,05$) više u odnosu na grupe L i XL. Iqbal i sar. (2016) su ustanovili značajno viši gubitak mase tokom inkubacije u grupama jaja prosječne mase 60,05 g (11,32%) i 65,03 g (11,12%) u odnosu na grupu jaja prosječne mase 70,03 g (10,62%). Rosa i sar. (2002) su klasifikovali jaja u odnosu na njihovu masu (60,0; 65,1; 66,6; 69,0 i 73,2 g) i ustanovili minimalne razlike u procentu gubitka mase tokom inkubacije (10,9; 10,3; 10,2; 10,1 i 10,0%). Sličan trend opisali su i Gahri i sar. (2015), koji su u tri grupe jaja klasifikovanih prema masi (52,6 – 55,7; 57,2 – 60,2 i 61,7 – 64,7 g) ustanovili smanjenje gubitka mase tokom inkubacije sa porastom početne mase jaja (12,56; 12,13 i 11,63%).

Nasuprot ovome su rezultati do kojih su došli Duman i ekero lu (2017), koji među grupama jaja razičite mase (55,0 – 60,0; 60,1 – 65,0; 65,1 – 70,0 g) nisu ustanovili statistički značajnu razliku u gubitku mase (13,03; 13,24; 13,02%). Uočeno smanjenje procenta gubitka mase tokom inkubacije sa povećanjem mase jaja vjerovatno nastaje kao rezultat smanjenja odnosa površine ljuske sa masom sadržaja jaja (Ulmer-Franco i sar., 2010; Iqbal i sar., 2016). Optimalne vrijednosti za gubitak mase jaja tokom inkubacije iznose 6,5 – 14,0%, što se smatra dovoljnim za pravilno formiranje vazdušne komore (Molenaar i sar., 2010). Bell i Weaver (2002) navode da na gubitak mase jaja tokom inkubacije mogu uticati i kvalitet ljuske i uslovi inkubacije.

Pokazatelji oplodjenosti i valivosti jaja različite mase prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2. Oplođenost i valivost uložених i oplođenih rasplodnih jaja (%)

Grupa	Oplođenost jaja (%)	Valivost uložених jaja (%)	Valivost oplođenih jaja (%)
S	92,7	76,0	82,0
M	92,7	75,3	81,3
L	95,3	78,7	82,5
XL	92,0	66,0	71,7

Oplođenost jaja, kao ključan faktor valivosti, uslovljena je prije svega reproduktivnim funkcijama roditelja, naročito kvalitetom sperme i polnim ponašanjem pijetla, te procesom formiranja jaja i funkcionisanjem tubularnih žlijezda kokoške (King'ori, 2011). Ovaj pokazatelj varira u zavisnosti od uzrasta jata i genotipa (Kumpula, 2004; Abudabos, 2010; Iqbal i sar. 2016), ali svakako i od paragenetskih faktora, kao što je ishrana i odnos polova. Uticaj paragenetskih faktora, prije svega ishrane, na oplođenost jaja posebno je važan za roditeljska jata teškog linijskog hibrida, koji je selekcionisan na tovnost i dobro iskorištavanje hrane, zbog čega su rasplodne jedinke sklone gojenju i neophodno je hraniti ih restriktivno, kako bi se očuvala reproduktivna aktivnost. Mbajjorgu i Ramaphala (2014) u pogledu valivosti jaja različite mase ističu značaj specifičnosti svake rase ili hibrida, ali i uticaj jedinki unutar iste rase ili hibrida. Oplođenost jaja u našem istraživanju bila je najniža u grupi XL (92,0%), neznatno viša u grupama S i M (92,7%), a najviša u grupi L (95,3%), ali bez statistički značajnih razlika među

grupama (χ^2 0,106; $p>0,05$). Ulmer-Franco i sar. (2010) nisu ustanovili razliku u oplođenosti tri grupe jaja prosječne mase 58,3, 62,6 i 66,8 g (84,2; 85,1; 87,5%, redom), ali su uočili njen porast s povećanjem prosječne mase jaja. Gahri i sar. (2015) takođe nisu utvrdili statistički značajnu razliku u oplođenosti tri grupe jaja različite mase (52,62 – 55,65; 57,15 – 60,15 i 61,65 – 64,65 g naprema 91,5; 93,0; 94,7%), ali su potvrdili nalaze drugih autora, da sa porastom mase jaja raste i procenat oplođenosti. Odsustvo značajnih razlika u oplođenosti jaja različite mase opisali su i Abudabos i sar. (2017) i Singh i sar. (2017) kod autohtonih rasa kokoši u slobodnom držanju, te Kumpala (2004) i Duman i Şekeroğlu (2017) kod teškog linijskog hibrida. S druge strane, Iqbal i sar. (2016) su ustanovili statistički značajno opadanje procenta oplođenosti, sa povećanjem mase jaja (96,7; 93,3; 90,3%, redom). Valivost uložених jaja u našem istraživanju imala je najvišu vrijednost u grupi L (78,7%), a najnižu u grupi XL (66,0%), a razlike među grupama u ovom istraživanju nisu bile statistički značajne (χ^2 1,856; $p>0,05$).

Valivost оплођених јаја била је највиша у групи L (82,5%), а најнижа у XL (71,7%), такође без статистички значајних разлика (χ^2 1,377; $p>0,05$). Ипак, вриједности процента валивости у оба случаја биле су ниже у групи јаја највеће масе (XL) у односу на групе S, M и L које су имале relativно сличне вриједности ових показатеља. Kumpula (2004) наводи да инкубација sitних, средњих и крупних јаја није показала статистички значајну разлику у валивости уложених (85,5; 82,3 и 82,2%) и оплођених јаја (91,0; 89,9 и 87,9%), али су њене вриједности опадале с повећањем масе јаја. Ulmer-Franco i sar. (2010) су такође добили сличне вриједности у три групе за валивост оплођених јаја (88,3; 89,9 и 84,3%) и relativно нижу валивост за крупна јаја, што потврђују и резултати до којих су дошли Ramaphala i Mbajorgu (2013) (јаја масе <49; 50-59 и 60-69 g напрема 92,4; 90,9; 90,9%, редом). Gahri i sar. (2015) наводе да су добили сличне вриједности за валивост уложених (81,3; 85,3; 80,3%, редом) и оплођених јаја различите масе (83,7; 86,4; 83,8%, редом), при чему је најбоље резултате

имала група јаја средње масе. Iqbal i sar. (2016) су установили значајну разлику у валивости између јаја просјечне масе 60,05, 65,03 и 70,03 g, како уложених (89,7; 83,7; 78,3%), тако и оплођених јаја (92,7; 89,6; 86,7%). Rosa i sar. (2002) су, анализирајући резултате инкубације четири групе јаја, просјечне масе 60,0, 65,1, 66,6, 69,0 и 73,2 g, установили статистички значајно нижу валивост у групи јаја највеће масе у односу на све остале групе (86,3; 86,6; 85,9; 85,5; 83,6%, редом), што је показала и валивост оплођених јаја (92,5; 92,8; 92,0; 91,6; 89,5%, редом). Duman i Şekeroğlu (2017) су установили болју валивост оплођених и уложених јаја у групи јаја средње (88,69 и 85,00%) и мање масе (87,81 и 84,17%) у односу на крупна јаја (80,76 и 78,05%). До супротних резултата дошли су DeWitt i Schwalbach (2004), који су приликом инкубације јаја рase нјухемпшир и родajland utvrdili болју валивост у групи јаја веће масе.

Проценат ембрионалног mortalитета у зависности од масе јаја дат је у табели 3.

Табела 3. Приказ ембрионалног mortalитета у зависности од масе јаја

Група	Ембрионални mortalитет							
	Укупан		Рани		Средњи		Касни	
	n	%	n	%	n	%	n	%
S	25	18,0	15	10,8	4	2,9	6	4,3
M	26	18,7	17	12,2	1	0,7	8	5,8
L	25	17,5	17	11,9	1	0,7	7	4,9
XL	39	28,3	25	18,1	3	2,2	11	8,0

Укупан ембрионални mortalitet у нашем истраживању варирао је од 17,5% у групи L до 28,3% у групи XL. Разлике у вриједностима овог параметра између испитаних група јаја нису биле статистички значајне (χ^2 5,317; $p>0,05$). Овакав налаз у складу је са подацима које наводе Abudabos i sar. (2017) за инкубацију јаја аутохтоне расе kokoši у слободном држању, као и Duman i Şekeroğlu (2017) за инкубацију јаја тешког линijsког хибрида. Nasuprot tome, Rosa i sar. (2002) су установили значајно виши укупан mortalitet у групи крупних јаја, просјечне масе 73,2 g (9,6%), у односу на јаја просјечне масе 60,0 g (7,0%) и 65,1 g (6,7%), што је у складу и са резултатима до којих су дошли Iqbal i sar. (2016). Kopecký (2015) је установио највиши укупан mortalitet у групи јаја масе 70–75 g (16,7%), а најнижи у групи 55–60 g (9,7%). Rani ембрионални mortalitet у нашем истраживању био је најизраženiji у групи XL (18,1%), а најмање изражен у групи S (10,8%), при чему није било статистичке значајности разлика (χ^2 3,412; $p>0,05$). Srednji ембрионални mortalitet био је највиши у групи S (2,9%), а најнижи у групамa M и L (0,7%), такође без значајне разлике између група (χ^2 3,081; $p>0,05$). Kasni ембрионални mortalitet варирао је у rasponu од 4,3% у групи S до 8,0% у групи XL, такође без статистички значајне разлике (χ 1,870; $p>0,05$). Odsustvo статистички значајних разлика међу јajима различите масе за вриједности средњег и касног mortaliteta установили су Kumpula (2004) и Malik i sar. (2015). Iqbal i sar. (2016) utvrdili су значајно виши rani, srednji и kasni mortalitet у

групи крупних јаја просјечне масе 70,03 g (3,3; 2,3 и 3,00%, редом) у односу на групу јаја просјечне масе 60,05 g (2,0; 1,3 и 1,67%, редом). Група јаја највеће масе (XL) у нашем истраживању имала је више вриједности раног и касног mortaliteta, иако није било статистичке значајности разлика, што је у saglasnosti са резултатима више аутора. Ulmer-Franco i sar. (2010) у свом истраживању нису установили разлику у вриједностима раног и средњег ембрионалног mortaliteta, док је вриједност касног mortaliteta била значајно виша у групи крупних (7,0%) у односу на групу средњих (4,8%) и sitnih јаја (2,8%). Sličно pomenutim ауторима, Kumpula (2004) је установио разлику само у вриједностима касног ембрионалног mortaliteta, који је био значајно виши у групи крупних (6,1%) у односу на јаја мање (1,8%) и средње масе (4,3%). Gahri i sar. (2015) су најнижи rani mortalitet registrovali у групи средњих јаја (2,96%) у односу на 3,95% код sitnijih и 4,68% код крупних јаја, док је kasni mortalitet био виши у групи крупних (6,38%) у односу на јаја мање (2,85%) и средње масе (3,63%). Porast mortaliteta са повећањем масе јаја, нарочито старијег јата, може бити у vezi са nemogućnošću embriona да постигне одговарајућу температуру у почетној фази инкубације или губитка metaboličke toplote у kasnoj фази инкубације (Lourens i sar., 2005).

ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju značaj mase rasplodnih jaja za krajnje rezultate inkubacije, odnosno njihovu međusobnu povezanost, a time i potrebu klasiranja rasplodnih jaja prije ulaganja u inkubatore. Gubitak mase tokom inkubacije bio je proporcionalno manji kod jaja veće mase, najvjerovatnije zbog odnosa mase ili zapremine jaja sa površinom ljuske. Takođe, embrionalni mortalitet imao je relativno više

vrijednosti u inkubaciji jaja izrazito velike mase, što govori u prilog tome da za inkubaciju treba izabrati jaja prosječne mase za dato jato. Na rezultate inkubacije utiču i drugi parametri, kao što su hibrid, dob jata, odnos polova, godišnje doba, ishrana i slično, a koje bi trebalo uzeti u obzir u cilju objektivizacije i korektnog tumačenja dobijenih rezultata istraživanja.

LITERATURA

1. Abudabos A. (2010): The effect of broiler breeder strain and parent flock age on hatchability and fertile hatchability. *International Journal of Poultry Science*, 9: 231–235.
2. Abudabos A.M.I., Aljumaah R.S.I., Algawaan A.S.I., Al-Sornokh H.I., Al-Atiyat R.M.I. (2017): Effects of hen age and egg weight class on the hatchability of free range indigenous chicken eggs. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 33–40.
3. Bell D.D., Weaver W.D. (2002): *Commercial Chicken Meat and Egg Production*.
4. DeWitt F., Schwalbach L.M.J. (2004): The effect of egg weight on the hatchability and growth performance of New Hampshire and Red Rhode Island chicks. *South African Journal of Animal Science*, 34: 62–64.
5. Duman M., ekerolu A. (2017): Effect of egg weights on hatching results, broiler performance and some stress parameters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 255–262.
6. Đermanović V., Mitrović S., Petrović M. (2010): Broiler breeder age affects carrying eggs intensity, brood eggs incubation values and chicken quality. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8: 666–670.
7. Fasenko G.M. (2007): Egg storage and the embryo. *Poultry Science*, 86: 1020–1024.
8. Gahri H., Najafi G., Deldar F. (2015): Effect of egg weight of broiler breeder on egg characteristics and hatchery performance. *International Journal of Biosciences*, 6: 42–48.
9. Iqbal J., Khan S.H., Mukhtar N., Ahmed T., Pasha R.A. (2016): Effects of egg size (weight) and age on hatching performance and chick quality of broiler breeder. *Journal of Applied Animal Research*, 44: 54–64.
10. King'ori A.M. (2011): Review of the factors that influence egg fertility and

- hatchability in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 10: 483–492.
11. King'ori A.M. (2012): Poultry egg external characteristics: Egg weight, shape and shell colour. *Research Journal of Poultry Sciences*, 5: 14–17.
 12. Kopecký J. (2015): The effect of hen hatching eggs characteristics and time of its storage on embryonic mortality during incubation. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 48: 146–150.
 13. Kumpula B.L. (2004): Comparing hatchability, incubation length and chick quality from three egg sizes from two modern broiler strains. *CHEPA Final Report*.
 14. Lourens A., van den Brand H., Meijerhof R., Kemp B. (2005): Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development. *Poultry Science*, 84: 914–920.
 15. Malik H.E.E., Sakin A.I.Y., Elagib H.A.A., Dousa B.M., Elamin K.M. (2015): Effect of egg weight and egg shell thickness on hatchability and embryonic mortality of Cobb broiler breeder eggs. *Global Journal of Animal Scientific Research*, 3: 186–190.
 16. Mbajorgu C.A., Ramaphala N.O. (2014): Insight into egg weight and its impact on chick hatch-weight, hatchability and subsequent growth indices in chickens - A review. *Indian Journal of Animal Research*, 48: 209–213.
 17. Molenaar R., Reijrink I.A.M., Meijerhof R., Van Den Brand H. (2010): Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12: 137–148.
 18. Ramaphala N.O., Mbajorgu C.A. (2013): Effect of egg weight on hatchability and chick hatch-weight of Cobb 500 broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 885–892.
 19. Rosa P.S., Guidoni A.L., Lima I.L., Reckziegel Bersch F.X. (2002): Effect of incubation temperature on hatching results of broiler breeders eggs classified by weight and hen age. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31: 1011–1016. (in Portuguese)
 20. Singh M.K., Kumar S., Sharma R.K., Singh S.K., Singh B., Singh D.V. (2017): Assessment of pre and post-incubation parameters in Uttara breeder hens. *Indian Journal of Animal Research*, 51: 948–951.
 21. Ulmer-Franco A.M., Fassenko G.M., O'Dea Christopher E.E. (2010): Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poultry Science*, 89: 2735–2742.

Rad primljen: 3.3.2018.
 Rad odobren: 12.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801054V

UDK: 636.592.082.474

Original scientific paper

INFLUENCE OF WEIGHT OF MEAT-TYPE HYBRID HATCHING EGGS ON INCUBATION RESULTS

Marinko VEKIĆ^{1*}, Mirjana MITRAKOVIĆ², Đorđe SAVIĆ¹

1 Marinko Vekić, MSc, teaching assistant; Đorđe Savić, PhD, assistant professor,
University of Banja Luka, Faculty of Agriculture, University city, Bulevar
vojvode Petra Bojovića 1A, 78.000 Banja Luka

2 Mirjana Mitraković, BSc, Avis DM, Danka Mitrova bb, 78.420 Srbac

* Corresponding author: Marinko Vekić, marinko.vekić@agro.unibl.org

Abstract: The aim of study was to examine the values of the incubation parameters (weight loss, fertilization, hatchability of placed and fertilized eggs, total, early, middle and late embryonic mortality) of eggs of different weights in broiler hybrid Cobb 500. In total, 600 eggs were divided into four equal groups ($n = 150$ each) according to their weight: 57.5-62.5 g (S); 62.6-67.5 g (M); 67.6-72.5 g (L) and 72.6-77.50 g (XL). Values of incubation parameters were determined and statistically processed by standard methods. The weight of eggs significantly influenced the loss of egg weight during incubation ($p < 0.05$), with this loss being higher in smaller eggs (group S 11.10% and group M 11.40%) compared to larger eggs (group L 10.42% and group XL 10.31%). Hatchability of all eggs in groups S, M, L and XL was 76.0; 75.3; 78.7 and 66.0%, respectively, and for fertilized it was 82.0; 81.3; 82.5 and 71.7%, respectively, with no significant difference ($p > 0.05$). The weight of eggs did not significantly affected the difference in embryo mortality values, although in the XL egg group a higher value of total, early and late mortality was found, compared to other groups. The results of this study indicate lower hatchability and higher mortality of embryos in eggs of extremely large weight, compared to other groups, which indicates that special attention should be given to the selection of hatching eggs in terms of their weight.

Key words: hatching eggs, egg weight, incubation parameters

INTRODUCTION

Egg weight is included in external shape index, mass, thickness, strength, quality indicators, together with the density, color and purity of the shell

(King'ori, 2012). These indicators are equally important in assessing the quality of consumable and hatching eggs. The success of the incubation of hatching eggs of meat-type hybrid, measured by the percentage of the hatchability and quality of the chickens, in addition to the length and conditions of storage (Fasenko, 2007), and incubation conditions (Molenaar et al., 2010), can be significantly determined by the quality of incubated eggs. (King'ori, 2011). Eggs that do not satisfy the criteria, mainly due to poor quality of the shell (eg, irregular shape, physical damage, drowsiness) and eggs of extremely small or large mass (Bell and Weaver, 2002), are removed from the hatching eggs before the incubation process.

The mass of eggs and the results of incubation are directly interrelated so that the hatchability of extremely small and extremely large eggs has a relatively lower value than of eggs of medium or average weight of the range of 55-65 g (Bell and Weaver, 2002). The mass of hatching eggs of meat-type hybrids has an increasing trend during the period of exploitation (Đermanović et al, 2010), which can be influenced by numerous factors of genetic and paragenetic nature (King'ori, 2012). Kumpula (2004) did not recognize the difference in fertilization and hatchability between three size groups of two commercial hybrids. However, the same author recognized a higher percentage of A class chickens in the group of small and medium eggs, and a significantly higher percentage of late embryonic mortality and B class

chickens in the group of large eggs. Iqbal et al. (2016) found differences in the percentage of fertilization and hatchability of commercial hybrids among different egg sizes, maximum fertility and hatchability ($P \leq 0.05$) was noticed in small egg size group, followed by medium and large egg size groups. However, maximum embryonic mortality and higher percentage of infertile eggs was recorded in large size egg group, followed by medium and small egg size groups. Malik et al (2015) also described better fertility and hatchability of small eggs compared to medium and large eggs. The higher percentage of late embryonic mortality in the group of large eggs, in comparison to medium and small eggs, without distinction in other hatchability indicators, was described by Ulmer-Franco et al. (2010) and Gahri and Sarah. (2015), while Ramaphala and Mbajiong (2013) didn't affirm the effect of egg size on hatching performance. A relatively higher percentage of mass loss in the incubation of small compared to medium or large eggs was established by Kumpula (2004), Ulmer-Franco et al. (2010) and Gahri et al. (2015), while this loss among the three weight groups of eggs in the research carried out by Duman and Şekeroğlu (2017) did not statistically differ. Effect of egg mass on incubation results in semi-intensive farming of autochthonous hens, according to Abudabos et al. (2017), was not consistent, while Singh et al. (2017) did not notice the effect of egg mass on the incubation results.

The aim of this study was to determine,

on the basis of technological indicators of incubation (loss of egg mass, percentage of fertilization, hatchability of placed and fertilized eggs, and percentage of

total, early, middle and late embryonic mortality), the effect of different size eggs from parent stock on the final results of incubation.

MATERIAL AND METHOD OF WORK

The research was carried out on the commercial farm of Cob500 parent stock and the commercial incubator station on a sample of 600 hatching eggs. The eggs originated from the parent stock, aged 52 weeks, and were hatched, collected and delivered to the storehouse of the incubator station on the same day, and then stored for four days in the cardboard boxes until the incubation began. The collected eggs are classified into groups according to their mass, by individual measurement using a technical scale (0.01 g) immediately before incubation, after which they are marked and depending on the measured mass distributed in one of four groups: 57.5 - 62.5 g (S), 62.6-67.5 g (M), 67.6-72.5 g (L) and 72.6-77.50 g (XL). Pre-heating and egg incubation conditions followed the standard work technology for the given hybrid in the commercial incubator station and were identical to all groups in the study.

Data obtained by measuring individual eggs before putting them in the setter and after transferring them to the hatcher was used to calculate the mass loss percentage (GM):

$GM = ((\text{Egg mass before placing in setter} - \text{egg mass on the 18th day of incubation}) / \text{egg mass before placing in setter}) \times 100.$

Inspection of the hatcher residue determined: number of fertilized and unfertilized eggs; the number of hatched chickens, and the number of embryos that died in the first (early), second (middle) and third week incubation (late mortality), on the basis of this data the following parameters of incubation were calculated:

Fertilization of eggs (O,%)

$O = (\text{number of fertilized eggs} / \text{total number of eggs}) \times 100;$

Hatchability of all eggs (Vu,%)

$Vu = (\text{number of hatched chickens} / \text{total number of eggs}) \times 100;$

Hatchability of fertilized eggs (Vo,%)

$Vo = (\text{number of hatched chickens} / \text{number of fertilized eggs}) \times 100;$

Total embryonic mortality (UM,%)

$UM = (\text{number of dead embryos} / \text{number of fertilized eggs}) \times 100;$

Early embryonic mortality (RM,%)

$RM = (\text{number of dead embryos in up to 7 days of incubation} / \text{number of fertilized eggs}) \times 100;$

Middle embryonic mortality (SM,%)

$SM = (\text{number of dead embryos in 8-14 days of incubation} / \text{number of}$

fertilized eggs) $\times$ 100

Late embryonic mortality (KM,%)

KM = (number of dead embryos in 15-21 days of incubation / number of fertilized eggs) $\times$ 100.

Statistical data processing for loss of egg mass during incubation was carried out by analyzing variance at the level of significance $p < 0.05$, while χ^2 test at the significance level $p < 0.05$ was used for hatchability and mortality values.

RESULTS OF RESEARCH AND DISCUSSION

Weight loss of hatching eggs during incubation is shown in Table 1.

Table 1. Weight loss of hatching eggs during incubation ("Mean $\pm$ SEM")

Group	Egg weight(g)	Egg weight on 18.day (g)	Weight loss (%)
S	61,27 ^d ($\pm 0,19$)	54,47 ^d ($\pm 0,24$)	11,10 ^a ($\pm 0,24$)
M	65,45 ^c ($\pm 0,24$)	57,99 ^c ($\pm 0,30$)	11,40 ^a ($\pm 0,28$)
L	69,83 ^b ($\pm 0,22$)	62,56 ^b ($\pm 0,29$)	10,42 ^b ($\pm 0,25$)
XL	74,19 ^a ($\pm 0,25$)	66,54 ^a ($\pm 0,35$)	10,31 ^b ($\pm 0,34$)

^{abc} – values in the same column marked with different letters have statistically significant difference ($p < 0.05$)

The highest loss of egg mass during incubation (11.40%) in this study was detected in group M, and the smallest (10.31%) in group XL. The values of loss of egg mass during incubation in groups S and M were significantly ($p < 0.05$) higher than in groups L and XL. Iqbal et al (2016) found a significantly higher loss of weight during incubation in egg groups of average weight of 60.05 g (11.32%) and 65.03 g (11.12%) compared to the group of eggs with an average weight of 70.03 g (10, 62%). Rosa et al. (2002) classified eggs in relation to their weight (60.0, 65.1, 66.6, 69.0 and 73.2 g) and found minimal differences in percentage of mass loss during incubation (10.9, 10, 3; 10.2; 10.1 and 10.0%). A similar trend was described by Gahri et al. (2015), who

classified eggs in three groups by their weight (52.6-55.7, 57.2-60.2 and 61.7-64.7 g) and they found a decrease in weight loss during incubation with the initial egg mass increase (12.56, 12.13 and 11.63%). However, Duman and Şekeroğlu (2017) did not find statistically significant difference in loss of weight (13.03; 13.24; 13.02%) among groups of eggs with different weight (55,0-60,0; 60,1-65,0; 65,1-70,0 g). The observed reduction in the percentage of mass loss during incubation with the increase in egg mass is probably due to a decrease in the ratio of the shell surface to the mass of egg contents (Ulmer-Franco et al., 2010; Iqbal et al., 2016). Optimum values for loss of egg mass during incubation are 6.5-14.0%, which

is considered sufficient for the proper formation of the air chamber (Molenaar et al., 2010). Bell and Weaver (2002) state that the quality of the shell and the conditions of incubation can also affect

loss of egg mass during incubation.

Indicators of fertilization and hatchability of eggs of different mass are shown in Table 2.

Table 2. Fertilization and hatchability of placed and fertile hatching eggs (%)

Group	Fertilization of eggs (%)	Hatchability of placed eggs (%)	Hatchability of fertilized eggs (%)
S	92,7	76,0	82,0
M	92,7	75,3	81,3
L	95,3	78,7	82,5
XL	92,0	66,0	71,7

The fertilization of the eggs, as a key factor of hatchability, is conditioned by the reproductive functions of the parents, in particular by the quality of sperm and full behavior of the cock, as well as by the process of egg formation and the functioning of hens' tubular glands (King'ori, 2011). This indicator varies depending on the age of the flock and the genotype (Kumpula, 2004; Abudabos, 2010; Iqbal et al., 2016), but also on paragenetic factors, such as nutrition and sex ratio. The influence of paragenetic factors, primarily nutrition on egg fertilization, is particularly important for the parent stock which is selected for fattening and well-used food, which is why they are prone to weight gain and it is necessary to feed them restrictively in order to preserve reproductive activity. With regard to the eggs hatchability of different masses Mbajorgu and Ramaphala

(2014) emphasize the importance of the specificity of each race or hybrid, but also the influence of individuals within the same race or hybrid. The fertilization of eggs in our study was the lowest in group XL (92.0%), slightly higher in groups S and M (92.7%), and the highest in group L (95.3%), but without statistically significant differences among groups (χ^2 0.106; $p > 0.05$). Ulmer-Franco et al. (2010) did not find the difference in fertilization of three groups of eggs with an average mass of 58.3, 62.6 and 66.8 g (84.2, 85.1, 87.5%, respectively), but they noted its increase with an increase in average mass of eggs. Gahri et al. (2015) also did not find a statistically significant difference in fertilization of three groups of eggs of different masses (52.62-55.65; 57.15-60.15 and 61.65-64.65 g at 91.5; 93.0; 94.7%), but they confirmed the findings of other authors that with the increase

in egg mass percentage of fertilization also increases. The absence of significant differences in the fertilization of eggs of different masses was also described by Abudabos et al. (2017) and Singh et al. (2017) in autochthonous breeds of free-range chicken, and Kumpala (2004) and Duman and Şekeroğlu (2017) described this absence in meat-type hybrids. On the other hand, Iqbal et al. (2016) found a statistically significant decrease in the percentage of fertilization, with an increase in the weight of eggs (96.7, 93.3, 90.3%, respectively). Hatchability of placed eggs in our study had the highest value in group L (78.7%), and the lowest in group XL (66.0%), and the differences among the groups in this study were not statistically significant (χ^2 1.856; $p > 0.05$). Hatchability of fertilized eggs was the highest in group L (82.5%), and the lowest in XL (71.7%), also without statistically significant differences (χ^2 1.377; $p > 0.05$). However, the percentage values of hatchability in both cases were lower in the group of eggs of the highest mass (XL) compared to the groups S, M and L which had relatively similar values of these indicators. Kumpala (2004) states that the incubation of small, medium and large eggs did not show a statistically significant difference between the placed eggs (85.5; 82.3 and 82.2%) and the fertilized eggs (91.0; 89.9 and 87.9 %), but its values decreased with increasing egg mass. Ulmer-Franco et al. (2010) also received similar values in three groups for the hatchability of fertilized eggs (88.3, 89.9 and 84.3%) and relatively lower hatchability for

large eggs, as confirmed by the results obtained by Ramaphala and Mbajiorgu (2013) (egg masses <49; 50-59 and 60-69 g for 92.4; 90.9; 90.9%, respectively). Gahri et al. (2015) state that they got similar values for hatchability of placed eggs (83.3%, 85.4%, 80.3%, respectively) and fertilized eggs of different masses (83.7; 86.4; 83.8%, respectively); where the best results were scored by a group of medium-sized eggs. Iqbal et al. (2016) found a significant difference between the eggs of an average weight of 60.05, 65.03 and 70.03 g, for placed eggs (89.7, 83.7, 78.3%) and for fertilized eggs (92, 7; 89.6; 86.7%). Analyzing the results of the incubation of four groups of average weight eggs (60.0, 65.1, 66.6, 69.0) and 73.2 g, Rosa et al. (2002) found statistically significant decreased hatchability in the group of eggs of the highest mass compared to all other groups (86.3, 86.6, 85.9, 85.5, 83.6%, respectively), which was also shown by the hatchability of fertilized eggs (92.5; 92.8; 92.0; 91.6; 89.5%, respectively). Duman and ekero lu (2017) discovered better hatchability of fertilized and placed eggs in the medium egg group (88.69 and 85.00%) and lower mass group (87.81 and 84.17%) compared to large eggs (80.76 and 78.05%) DeWitt and Schwalbach (2004) got the opposite results during the incubation of eggs of the New Hampshire and Rhode Island breed as they found better hatchability in a group of larger eggs.

The percentage of embryonic mortality, depending on the weight of hatching eggs, is given in Table 3.

Table 3. Embryonic mortality depiction, depending on the weight of eggs

Group	Embryonic mortality							
	Total		Early		Mid		Late	
	n	%	n	%	n	%	n	%
S	25	18,0	15	10,8	4	2,9	6	4,3
M	26	18,7	17	12,2	1	0,7	8	5,8
L	25	17,5	17	11,9	1	0,7	7	4,9
XL	39	28,3	25	18,1	3	2,2	11	8,0

The total embryonic mortality in our study ranged from 17.5% in group L to 28.3% in group XL.

The differences in the values of this parameter between the egg groups were not statistically significant (χ^2 5,317; $p > 0,05$). This finding is consistent with the data reported by Abudabos et al. (2017) for the incubation of eggs of autochthonous free-range chickens, and those by Duman and Şekeroğlu (2017) for the egg incubation of meat-type hybrid. On the contrary, Rosa et al. (2002) found a significantly higher total mortality in the group of large eggs of an average weight of 73.2 g (9.6%), compared to eggs of an average weight of 60.0 g (7.0%) and 65.1 g (6, 7%), which is consistent with the results obtained by Iqbal et al. (2016) Kopecký (2015) found the highest total mortality in the group of eggs weighing 70-75 g (16.7%), and the lowest in the group weighing 55-60 g (9.7%). Early embryonal mortality in our study was most pronounced in group XL (18.1%), and lowest in group S (10.8%), with no statistically significant differences (χ^2 3,412, $p > 0.05$). The mid

embryonic mortality was highest in the S group (2.9%) and the lowest in the M and L groups (0.7%), also without significant difference between the groups (χ^2 3.081, $p > 0.05$). Late embryonal mortality ranged from 4.3% in group S to 8.0% in group XL, also without statistically significant difference (χ^2 1.870, $p > 0.05$). Kumpula (2004) and Malik and Sar. (2015) determined the absence of statistically significant differences between eggs of different masses for the mid and late mortality. Iqbal et al. (2016) found significantly higher early, mid and late mortality in the group of large eggs of an average weight of 70.03 g (3.3, 2.3 and 3.00%, respectively) in relation to the group of eggs of an average weight of 60.05 g (2.0; 1.3 and 1.67%, respectively). The largest mass group (XL) in our study had higher values of early and late mortality, although there was no statistically significant difference, which is in accordance with the results of several authors. Ulmer-Franco et al. (2010) did not find a difference in the values of early and middle embryonic mortality, while the value of late mortality was significantly

higher in the group of large (7.0%) compared to the group of middle-sized (4.8%) and small eggs (2, 8%). Similarly to the mentioned authors, Kumpula (2004) found the difference only in the values of late embryo mortality, which was significantly higher in the group of large (6.1%) compared to small (1.8%) and medium eggs (4.3 %). Gahri and sar. (2015) registered the lowest early mortality in the group of medium eggs (2.96%) compared to 3.95% for smaller eggs and 4.68% in large eggs, while the

late mortality was higher in the group of large (6.38%) compared to small (2.85%) and medium eggs (3.63%).

The increase in mortality with an increase in the mass of eggs, especially in older flock, may be associated with the inability of the embryo to achieve an appropriate temperature at the initial stage of incubation or loss of metabolic heat in the late incubation phase (Lourens et al., 2005).

CONCLUSION

The results of this study confirm the importance of breeding eggs for the ultimate incubation results, ie their interrelation, and therefore the need to classify hatching eggs before placing them in incubators. The loss of mass during incubation was proportionally smaller in eggs of higher mass, most likely due to the ratio of egg mass or volume to the shell surface. Also, embryonal mortality had a relatively higher value

in the incubation of exceptionally large eggs, which suggests that average –sized eggs from the flock should be selected for incubation. The incubation results are influenced by other parameters such as hybrid, age, sex ratio, nutrition and similar, which should all be taken into account for the purpose of objectivation and correct interpretation of the research results.

REFERENCES

1. Abudabos A. (2010): The effect of broiler breeder strain and parent flock age on hatchability and fertile hatchability. *International Journal of Poultry Science*, 9: 231-235.
2. Abudabos A.M.I., Aljumaah R.S.I., Algawaan A.S.I., Al-Sornokh H.I., Al-Atiyat R.M.I. (2017): Effects of hen age and egg weight class on the hatchability of free range indigenous chicken eggs. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 33-40.
3. Bell D.D., Weaver W.D. (2002): *Commercial Chicken Meat and Egg Production*.
4. DeWitt F., Schwalbach L.M.J. (2004): The effect of egg weight on the hatchability and growth performance of New Hampshire and Red Rhode Island chicks. *South African Journal of Animal Science*, 34: 62-64.

5. Duman M, Şekeroğlu A. (2017): Effect of egg weights on hatching results, broiler performance and some stress parameters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 255-262.
6. Đermanović V., Mitrović S., Petrović M. (2010): Broiler breeder age affects carrying eggs intensity, brood eggs incubation values and chicken quality. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8: 666-670.
7. Fassenko G.M. (2007): Egg storage and the embryo. *Poultry Science*, 86: 1020-1024.
8. Gahri H., Najafi G., Deldar F. (2015): Effect of egg weight of broiler breeder on egg characteristics and hatchery performance. *International Journal of Biosciences*, 6: 42-48.
9. Iqbal J., Khan S.H., Mukhtar N., Ahmed T., Pasha R.A. (2016): Effects of egg size (weight) and age on hatching performance and chick quality of broiler breeder. *Journal of Applied Animal Research*, 44: 54-64.
10. King'ori A.M. (2011): Review of the factors that influence egg fertility and hatchability in poultry. *International Journal of Poultry Science*, 10: 483-492.
11. King'ori A.M. (2012): Poultry egg external characteristics: Egg weight, shape and shell colour. *Research Journal of Poultry Sciences*, 5: 14-17.
12. Kopecký J. (2015): The effect of hen hatching eggs characteristics and time of its storage on embryonic mortality during incubation. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 48: 146-150.
13. Kumpula B.L. (2004): Comparing hatchability, incubation length and chick quality from three egg sizes from two modern broiler strains. *CHEPA Final Report*.
14. Lourens A., van den Brand H., Meijerhof R., Kemp B. (2005): Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability and post-hatch development. *Poultry Science*, 84: 914-920.
15. Malik H.E.E., Sakin A.I.Y., Elagib H.A.A., Dousa B.M., Elamin K.M. (2015): Effect of egg weight and egg shell thickness on hatchability and embryonic mortality of Cobb broiler breeder eggs. *Global Journal of Animal Scientific Research*, 3: 186-190.
16. Mbajjorgu C.A., Ramaphala N.O. (2014): Insight into egg weight and its impact on chick hatch-weight, hatchability and subsequent growth indices in chickens - A review. *Indian Journal of Animal Research*, 48: 209-213.
17. Molenaar R., Reijrink I.A.M., Meijerhof R., Van Den Brand H. (2010): Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12: 137-148.
18. Ramaphala N.O., Mbajjorgu C.A. (2013): Effect of egg weight on hatchability and chick hatch-weight of Cobb 500 broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 885-892.

19. Rosa P.S., Guidoni A.L., Lima I.L., Reckziegel Bersch F.X. (2002): Effect of incubation temperature on hatching results of broiler breeders eggs classified by weight and hen age. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31: 1011-1016. (in Portuguese)
20. Singh M.K., Kumar S., Sharma R.K., Singh S.K., Singh B., Singh D.V. (2017): Assessment of pre and post-incubation parameters in Uttara breeder hens. *Indian Journal of Animal Research*, 51: 948-951.
21. Ulmer-Franco A.M., Fassenko G.M., O'Dea Christopher E.E. (2010): Hatching egg characteristics, chick quality, and broiler performance at 2 breeder flock ages and from 3 egg weights. *Poultry Science*, 89: 2735-2742.

Paper received: 03.3.2018.

Paper accepted: 12.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801073G

UDK: 633.1:635.5.085.5

Naučna kritika

ZNAČAJ TRITIKALEA U ISHRANI ŽIVOTINJA*

**Nataša GLAMOČLIJA^{1*}, Marija STARČEVIĆ², Jelena ĆIRIĆ¹, Dragan ŠEFER¹,
Milica GLIŠIĆ¹, Milan Ž. BALTIC¹, Radmila MARKOVIĆ¹, Marija SPASIĆ³,
Đorđe GLAMOČLIJA⁴**

1 Dr Nataša Glamočlija; dr Jelena Ćirić; dr Dragan Šefer; Milica Glišić; dr Milan Ž. Baltić; dr Radmila Marković; Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Srbija

2 Dr Marija Starčević; Vojska Srbije, Beograd

3 Dr Marija Spasić; IEP (Institut za ekonomiku poljoprivrede), Volgina 15, Beograd

4 Dr Đorđe Glamočlija; Društvo selekcionara i semenara Republike Srbije, Beograd

*Korespondentni autor: glamonata@gmail.com

Kratak sadržaj: Žita su sa agronomskog i privrednog značaja najvažnija grupa ratarskih biljaka. Tritikale je savremeno žito, odnosno hibrid dobijen ukrštanjem pšenice i raži, s tim što je nasledio sposobnost raži da preživi jake mrazove, ali ima veću proteinsku vrednost, dok je veći prinos zrna i povećanu tolerantnost na ražanu glavnicu nasledio od pšenice. Na koji će se način koristiti tritikale zavisi od osobina sorte. Sorte krupnog i ujednačenog zrna sa povećanim sadržajem ukupnih proteina u odnosu na skrob i koje su po hemijskom sastavu bliže pšenici, koriste se za pripremu koncentrovane stočne hrane, kako za živinu, tako i za nepreživare i preživare. Sorte koje obrazuju veliku biomasu, slično raži, služe za spremanje voluminozne stočne hrane kao sveže ili silaže, senaže i sena. Hranljiva vrednost zrna tritikalea je na nivou pšeničnog, s tim što ima nešto više aminokiseline lizina. U pogledu zastupljenosti esencijalnih aminokiselina, pojedinih minerala i vitamina, zrno tritikalea može zadovoljiti značajan deo potreba domaćih i gajenih životinja. Tritikale, kao i ostala zrnasta hraniva, standardni su deo obroka za ishranu domaćih i gajenih životinja, posebno u većem procentu kada je životinjama potrebno više energije. U zavisnosti od vrste domaće životinje kao i tipa obroka, tritikale može činiti njegov značajan procenat. Prednost tritikalea nad drugim pravim žitima je taj što ima veći prinos, brži prolećni porast i mogućnost dužeg roka kosidbe za zelenu stočnu hranu jer ogrubi kasnije nego npr., raž ili ovas. Zbog navedenih prednosti tritikale je pogodan za setvu, posebno u zemljama u razvoju.

Ključne reči: tritikale, ishrana životinja, žita, hemijski sastav, hranljiva vrednost

* Rad je prezentovan na 22. Godišnjem savjetovanju doktora veterinarske medicine Republike Srpske (BiH) sa međunarodnim učešćem

UVOD

Jednogodišnje vrste porodice trava (fam. *Poaceae*) koje se gaje radi zrna, ali i

nekoliko vrsta iz drugih botaničkih porodica čiji se plodovi koriste na sličan način, svrstane su u grupu žita. Žita su sa agronomskog i privrednog značaja najvažnija grupa ratarskih biljaka. Od relativno novih vrsta koje su nastale radom čoveka, najvažniji je pšenično-ražani interspecijes hibrid nazvan tritikale. Tritikale je nasledio sposobnost

raži da preživi jake mrazeve, ali ima veću proteinsku vrednost (više glutena) (*Amaya and Peña, 1991; Boros, 2002; Tikhnenko i sar, 2002; Chelkowski and Tyrka, 2003*). Veći prinos zrna i povećanu tolerantnost na ražanu glavnicu nasledio je od pšenice.

POREKLO TRITIKALEA

Tritikale je prvo uspešno dobijeno žito koje je čovek stvorio ukrštanjem pšenice (*Triticum* sp.) i raži (*Secale cereale*), dveju različitih vrsta žita. Prvi stručni (naučni) naziv novonastale vrste bio je *Triticale hexaploide* lat., a izveden je od naziva roditeljskih biljaka. Kako navode *Sapra i sar, (1972)*, škotski botaničar Alexander Stephen Wilson (1827–1893) je godine 1875. dobio prvi interspecijes hibrid pšenice i raži. Dobijeni interspecijes hibrid nije davao plodno potomstvo zato što roditeljske vrste imaju različit broj hromozoma. I pored tog nedostatka, početni rezultati bili su interesantni za nauku. Nakon toga, veliki broj naučnika iz oblasti bioloških nauka radio je na ukrštanju različitih sorti pšenice i raži u cilju dobijanja što boljih interspecijes hibrida. Prema viziji naučnika, tritikale bi trebalo da ima najbolje osobine oba roditelja, i to hlebno-pekarski kvalitet zrna pšenice i odličnu prilagođenost raži prema različitim agroekološkim i zemljišnim uslovima, kao i povećanu

tolerantnost prema štetočinama i patogenima. Nova vrsta žita trebalo bi da se može gajiti uz manja ulaganja u tehnologiju proizvodnje i bila bi podesna za gajenje u zemljama u razvoju, s ciljem da se obezbede veće količine osnovne hrane za stanovništvo. Međutim, skromna saznanja iz oblasti genetike nisu davala odgovor kako rešiti problem koji nastaje ukrštanjem različitih vrsta a kao posledicu ima neplodnu F1 generaciju (*Laibach, 1925*). I pored toga, očekivanja i predviđanja svetske javnosti bila su da će novostvoreno žito, zahvaljujući velikom potencijalu rodности, značajno povećati proizvodnju hrane, kako u nerazvijenim, tako i u razvijenim zemljama. Poznati švedski genetičar *Arne Müntzing (Müntzing, 1979)* napisao je da treba očekivati da će se sintetička vrsta tritikalea pridružiti starim žitima kao hrana za značajno uvećan broj ljudske populacije, kao i njihovih domaćih životinja. Po svojim morfološkim i proizvodnim osobinama,

ова врста може имати веће приносе од родитељских врста, посебно у мање повољним агроеколошким условима и на сиromaшњим земљиштима.

Први светски рат прекинуо је рад на селекцији тритикаlea у Европи, али је он настављен на америчком континенту. У Мексику је основан Међународни центар за унапређење производње кукуруза и пшенице (International Maize and Wheat Improvement Centre – Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo CIMMYT). Коришћењем најсавременијих генетичких метода решен је први проблем мале фертилности новог интерспецијес хибрида. Други корак био је рад на повећању квалитета зрна са становишта употребе у исхрани људи (побољшане хлебно-пекарске особине) и домаћих животиња (повећан садржај сварљивих протеина). Стварањем озимих sorti visokog и чврстог стабла са повећаним коефицијентом продуктивног бокорења, тритикаlea постаје врло значајна крмна биљка чија се биомаса користи у исхрани преживара као свежа или за спремање сена, силаже и сенаже. Неке сорте могу се користити и комбиновано – испашом и косидбом. Као крмна биљка тритикаle се највише гаји на америчком континенту, док се у земљама у развоју производи ради зрна за исхрану људи (Glamočlija i sar, 2017). Zahvaljujući ovom naučnom centru objedinjen je rad na oplemenjivanju i dobijeni rezultati, vezani za stvaranje novih genotipova tritikalea, dostupni su svim zainteresovanim selekcionerima i

proizvođačima. Od početka rada u CIMMYT-u, stvoreno je više od 200 sorti tritikalea koje se mogu koristiti na različite načine (Glamočlija i sar, 2017). Danas ovaj Centar ima naučne stanice u više od 30 zemalja širom sveta.

Između dva svetska rata nastavljen je rad na селекцији тритикаlea у Европи. *Blakeslee and Avery* (1937) запазили су да се укрштањем пшенице као материнске биљке и ражи као donora polena најчешће добијају стерилни хибриди. Међутим, кад су третирањем колхичином индукovali полиплоидију, закључили су да ово хемијско средство удвоstrучује број хромозома и добијено је плодно потомство. На основу ових saznanja научник *Pierre Civaudron* је 1937. године у Француској усавршио технику добијања плодног потомства укрштањем пшенице и ражи. Применом нових метода селекције створио је већи број комерцијалних sorti добрих производних особина.

У Србији рад на добијању нових генотипова тритикаlea, интересантних за комерцијалну производњу, има вишедеценијску традицију. Наши научни радници су у новој врсти препознали жито које може имати вишеструку употребу у исхрани људи, домаћих и гажених животиња, као и у индустријској преради. Оплеменјивањем тритикаlea у нашој земљи баве се институти који су обезбедили велике банке gena, односно линија тритикаlea из иностранства и из сопствених укрштања (Glamočlija i sar, 2013).

PRIVREDNI ZNAČAJ TRITIKALEA

Na koji će se način koristiti tritikale zavisi od osobina sorte, odnosno od toga kom roditelju je ona više slična. *Boros* (2002) ističe da se sorte krupnog i ujednačenog zrna, koje su po hemijskom sastavu bliže pšenici, koriste u ishrani ljudi, ali i životinja. Sorte koje obrazuju veliku biomasu služe za spremanje voluminozne stočne hrane. Sorte krupnog zrna sa povećanim sadržajem ukupnih proteina u odnosu na skrob koriste se za pripremu koncentrovane stočne hrane, kako za živinu, tako i za nepreživare i preživare (*Belaid*, 1994; *Myer*, 2002; *Đekić i sar*, 2009). Značaj tritikalea u direktnoj ishrani ljudi ili posredno, kao stočne hrane, veliki je. Ipak, svetska proizvodnja tritikalea i drugih žita nije u srazmeri sa povećanjem broja ljudi. Podaci ukazuju na to da je u proteklih nekoliko godina ukupna proizvodnja žita u svetu bila manja od proseka, što može usloviti pojavu gladi

na globalnom nivou (Glamočlija i sar, 2017). Proizvodnja žita po stanovniku u 2012. godini, koja je zbog velikih suša u Australiji i SAD iznosila 294 kg, bila je najmanja u proteklih 30 godina. *Blum* (2014) naglašava da jedno od rešenja predstavlja povećanje površina pod tritikaleom zahvaljujući činjenici da ova biljka može da uspeva i na marginalnim zemljištima, kao i u aridnim uslovima koji se sve više šire kao posledica globalne promene klime. Sorte tritikalea novije generacije imaju značajno poboljšane biološke osobine i kvalitetnije zrno, usled povećanog sadržaja belančevina, posebno lizina. Ove sorte pružaju mogućnost sveobuhvatnijeg korišćenja u ishrani ljudi, na primer za pečenje hleba pomešanog sa pšeničnim brašnom, ali i za ishranu domaćih životinja, za pripremu koncentrovane stočne hrane povećane hranljive vrednosti (*Baier i Gustafson*, 1996; *Aguirre i sar*, 2002).

ZNAČAJ TRITIKALEA U ISHRANI ŽIVOTINJA

Tritikale se u ishrani domaćih i gajenih životinja koristi na više načina. Zrno, zahvaljujući visokom sadržaju ukupnih proteina i ugljenih hidrata, služi za pripremanje koncentrovane stočne hrane (*Lorenz*, 2003). U ishrani domaćih životinja ono može zameniti zrno ovsa, krmnog ječma i drugih žita. Poređenjem sa plevičastim plodovima ječma i ovsa, zrno je daleko podesnije kao koncentrovana hrana za živinu i nepreživare zbog većeg koeficijenta

iskorišćenja hrane (*Đekić i sar*, 2009).

Nadzemna biomasa koristi se kao voluminozna hrana za preživare. Za ovaj način korišćenja biomase tritikale se gaji kao čist usev, ali se može sejati i u različitim smešama sa ozimim i prolećnim mahunarkama (*Poysa*, 1985; *Blade i sar*, 2002; *Schwarte i sar*, 2005). Proizvedena biomasa koristi se sveža ili za spremanje silaže, senaže ili sena. Drugi način korišćenja nadzemne biomase tritikalea, gajenog u čistom usevu ili u

smešama, jeste napasanjem domaćih životinja, najčešće kao obročna ispaša (Redmon i sar, 1995).

Hranljiva vrednost zrna je na nivou pšeničnog uz konstataciju da ima neznatno više aminokiseline lizina. Prema dosadašnjim saznanjima korišćenjem zrna tritikalea za spravljanje koncentrovane stočne hrane najbolji rezultati postižu se u ishrani živine (ćurke i kokoši) i muznih grla. Kao krmna biljka tritikale ima veći prinos od ostalih pravih žita. Najkvalitetnija biomasa dobije se kosidbom biljaka u početku klasanja, dok se najveći prinos postiže nešto kasnijom kosidbom. U cilju povećanja proteinske vrednosti vegetativne biomase, tritikale treba sejati sa nekom od zrnenih mahunarki, na primer sa stočnim graškom. Prednost tritikalea nad drugim pravim žitima je brži prolećni porast i mogućnost dužeg roka kosidbe za zelenu stočnu hranu jer kasnije ogrubi nego raž ili ovas. U Kanadi i SAD-u izvesne površine pod zimskim sortama tritikalea služe za obročnu ispašu domaćih životinja.

Tritikale pripada ugljenohidratnim, energetske koncentrovanim hranivima. U novije vreme, pored kukuruza i zrno tritikalea predstavlja jedno od najvažnijih hraniva i izvora energije u ishrani do-

maćih i gajenih životinja u Srbiji. Zrno, kao i sporedni proizvodi dobijeni mlevenjem tritikalea, predstavljaju izuzetno pogodna visokosvarljiva hraniva za domaće i gajene životinje jer sadrže velike količine skroba, a relativno su siromašni u sirovim vlaknima. Proteine tritikalea, kao i ostalih zrna žita, preživari i nepreživari lako vare i apsorbuju. Koeficijent iskorišćenosti proteina tritikalea može biti veći nego kod drugih žita. Korišćenje tritikalea kao izvora energije u ishrani monogastričnih životinja često podrazumeva mogućnost smanjenja potrebne količine proteinskih hraniva u njihovoj ishrani. Mikrobnа fermentacija skroba iz tritikalea u buragu preživara slična je kao kod ječma i ovsa, ali tritikale se bolje enzimski vari od drugih žita u pravom želucu preživara (Fox i sar, 2001).

Prosečan hemijski sastav zrna tritikalea prikazan je u tabeli 1, a uporedan hemijski sastav i energetska vrednost nekih zrna žita u Evropi u tabeli 2 (De Boer and Bichel, 1988). Sastav i energetska vrednost pšenice, tritikalea i raži u Australiji uporedno su prikazani u tabeli 3 (Edwards, 1998), dok je uporedan hemijski sastav zrna tritikalea, pšenice i raži u Americi prikazan u tabeli 4 (McGlone and Pond, 2003).

Tabela 1. Prosečan hemijski sastav zrna tritikalea (% suve supstance)

Vrsta	Ukupni proteini	Skrob	Celuloza	Ukupni lipidi	Rastvorljivi šećeri	Mineralne soli
Tritikale	10,2 – 15,6	53 – 65	2,3 – 4,5	1,1 – 2,4	3,7 – 7,6	1,4 – 2,9

Tabela 2. Uporedan hemijski sastav i energetska vrednost tritikalea i drugih zrna žita u Evropi (g/kg suve materije)

Pokazatelj	Kukuruz	Pšenica	Tritikale	Raž	Ovas	Sirak	Proso
Ukupni proteini	106	130	140	116	120	120	128
Ukupna ulja	47	23	22	22	55	35	38
Celuloze	24	27	27	27	112	29	95
BEM	808	802	791	813	680	796	696
Skrob	700	680	620	640	440	700	590
Šećeri	20	31	55	50	18	15	10
Min. soli	15	18	20	22	33	20	43
Kalcijum	0,4	0,8	0,9	0,9	1,2	0,4	0,5
Fosfor	3,1	4,0	3,6	3,2	3,8	3,3	3,4
Sadržaj energije (MJ/kg suve supstance)							
ME, preživari	14,2	14	14	13,9	11,5	13,8	12,7
DE, svinje	16,4	16	15,8	15,7	13,2	15,8	13,6
AME, živina	15,9	14,8	14,5	12	12,3	15,3	14

Legenda: BEM – bezazotne ekstraktivne materije; ME – metabolička energija; DE – svarljiva energija; AME – prividna metabolička energija za živinu

Evropske sorte tritikalea imaju veći odnosu na druga ispitivana žita (*De Boer and Bichel*, 1988).

Tabela 3. Sastav i energetska vrednost pšenice, tritikalea i raži u Australiji (izraženo u suvoj materiji)

Vrsta žita	Pšenica	Tritikale	Raž
Svarljivi arabinoksilani (hemiceluloza) %	1.8	1.3	3.4
Nesvarljivi arabinoksilani (hemiceluloza), %	6.3	9.5	5.5
Beta glukani, %	0.8	1.7	2.0

Celuloza, %	2.0	2.5	1.5
Укупно svarljivo, %	2.4	1.7	4.6
Укупно nesvarljivo, %	9.0	14.6	8.6
Skrob, %	66 (54-74)	60 (55-63)	50
Protein, %	8-22	8-22	8-22
Metabolička energija, živina (MJ/kg)	9.0-14.8	14.0-15.2	(14.2)
Svarljiva energija, svinje (MJ/kg)	16.0	16.0	15.5
Metabolička energija, preživari (MJ/kg)	13.5	13.3	13.3

Tabela 4. Upoređan hemijski sastav zrna tritikalea, pšenice i raži u Americi (% u odnosu na masu svežeg i osušenog zrna)

Jedinjenja	Tritikale	Pšenica	Raž
Укупни proteini	10,3-15,6	9,3-16,8	13,0-14,3
Skrob	57-65	61-66	54,5
Sirova vlakna	3,1-4,5	2,8-3,9	2,6
Rastvorljivi šećeri	3,7-5,2	2,6-3,0	5,0
Mineralne soli	1,4-2,0	1,3-2,0	2,1

Tritikale, kao i ostala zrnasta hraniva, standardni su deo obroka za ishranu domaćih i gajenih životinja, posebno u većem procentu kada je životinjama potrebno više energije. U zavisnosti od vrste domaće životinje kao i tipa obroka, tritikale može činiti njegov značajan procenat. Negde do sredine osamdesetih godina smatralo se da tritikale sadrži niz antinutritivnih jedinjenja koja smanjuju iskoristivost drugih hranljivih materija. Jedinjenja kao što su pentozani, pektini, tanini, beta glukani, prisutni su u tritikaleu, ali ne u tolikoj meri da bi došlo do poremećaja u sistemu varenja. Bez obzira na to, interesovanje za zrno tritikalea poraslo je zahvaljujući visokom

sadržaju proteina i boljem sastavu aminokiselina u odnosu na druga žita koja se koriste u ishrani životinja (Boros, 2002).

S obzirom na to da tritikale sadrži više proteina u odnosu na ostala žita (tabela 2), ono se sve više koristi u obrocima domaćih životinja. Zrno tritikalea u pogledu zastupljenosti esencijalnih aminokiselina, pojedinih minerala i vitamina (tabela 5) može zadovoljiti značajan deo potreba domaćih i gajenih životinja (Morey, 1983; Macrae i sar, 1993; Lorenz i sar, 1974; Michela and Lorenz, 1974; Lebedzinska and Szefer, 2006; Kowieska i sar, 2011).

Tabela 5. Sadržaj esencijalnih aminokiselina, mineralnih materija i vitamina u tritikaleu

Aminokiseline (g/100g proteina)		Mineralni elementi		Vitamini	
Fenilalanin	4,08	K (%)	0,437	B ₁ (tiamin)	0,34-0,38 mg
Histidin	1,87	P (%)	0,487	B ₂ (riboflavin)	0,09-0,13 mg
Izoleucin	3,6	Mg (%)	0,190	B ₃ (niacin)	16,2 17,9 µg
Leucin	6,5	Ca (%)	0,033	B ₅ (pantoten. kiselina)	0,68-0,71 mg
Lizin	3,1	Fe p.p.m.	51,5	B ₆ (piridoksin)	0,42-0,51 µg
Metionin	1,8	Mn p.p.m.	55,4	B ₉ (folat)	78 µg
Treonin	3,2	Na p.p.m.	45	Provitamin A	0,015-0,017 mg
Triptofan	1,2	Cu p.p.m.	7,3	Vitamin E (tokoferol)	1,4 mg
Valin	4,5	Zn p.p.m.	26,1		

Zrno tritikalea se prvenstveno koristi za ishranu svinja, živine, raznih kaveznih ptica, ali i preživara, konja, glodara, kao i kućnih ljubimaca, te za biljojedne vrste riba u ribnjacima i za dohranu različitih vrsta divljači u lovištima za vreme zimskog perioda. Sastav aminokiselina u tritikaleu po nutricionističkim potrebama posebno odgovara monogastričnim životinjama, kao i živini (pticama). Neto iskorišćenost proteina kod ovih vrsta životinja može biti veća nego kod, na primer, pšenice i drugih žita, zahvaljujući visokom nivou aminokiseline lizina (Belaid, 1994; Pfeiffer, 1994; Saade, 1995; Varughese i sar, 1996b). Hemijska analiza zrna različitih novih, perspektivnih linija tritikalea se u CIMMYT centru koristi kao skrining metoda da bi se identifikovali genotipovi sa poželjnim nutricionističkim profilom za određenu životinjsku vrstu. Istraživanja su fokusirana na karakterizaciju hranljive vrednosti

različitih genotipova tritikalea i izbor novih sorti sa poboljšanom biološkom vrednošću (na primer sa visokim sadržajem ukupnih proteina i metaboličke energije) za određenu životinjsku vrstu (Mergoumand Gomez-Macpherson, 2004). Današnje sorte tritikalea imaju više bioloških osobina pšenice nego raži zbog povratnih ukrštanja novostvorenih linija sa pšenicom. Morfološke osobine zrna su sve više kao u pšenice, uz neznatna variranja u masi 1.000 semena. Takođe, nove sorte tritikalea imaju veći sadržaj skroba u zrnu, a samim tim zrno je i energetski vrednije. Međutim, to je uslovalo smanjenje sadržaja ukupnih proteina u odnosu na starije sorte. I pored toga, količina i kvalitet ukupnih proteina u zrnu tritikalea su povoljniji za ishranu domaćih životinja nego u ostalih žita (Varughese i sar, 1996a; Boros, 2002; Van Barneveld, 2002). Zrno tritikalea je relativno meko, za razliku od tvrdozrnih

sorti pšenice u kojih je ono skoro dvostruko tvrđe. To može biti prednost tokom prerade u stočnu hranu. Van Barneveld (2002) naglašava da meko zrno češće napadaju skladišne štetočine, tako da treba posvetiti punu pažnju čuvanju tokom skladištenja.

U mnogim zemljama u razvoju slama žita može biti značajan izvor hrane

za neke životinje, posebno u sušnim godinama kada čak može imati veću vrednost od zrna (Benbelkacem, 1991; Mergoum i sar, 1992). Tritikale obično prevazilazi pšenicu, ječam i druga žita u količini dobijene slame, naročito u sušnim i polusušnim područjima (Mergoum i sar, 1992).

LITERATURA

1. Aguirre A, O. Badiali, M. Cantarero, A. Leon, P. Ribotta and O. Rubiolo (2002): *Relationship of test weight and kernel properties to milling and baking quality in Argentine triticales*, Cereal Res Commun 30: 203–208.
2. Amaya A. and R. J. Peña (1991): Triticale industrial quality improvement at CIMMYT: past, present and future. In *Proc. 2nd Int. Triticale Symp., Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil*, 412–421.
3. Baier A. C. and J. P. Gustafson (1996): *Breeding strategies for triticale*. In: Triticale: today and tomorrow: developments in plant breeding, Vol. 5. Springer, Berlin, str. 563–569.
4. Belaid A. (1994): *Nutritive and economic value of triticale as feed grain for poultry*. CIMMYT Economics Working Paper 94–01. Mexico, DF, CIMMYT.
5. Benbelkacem A. (1991): *Le triticale et les travaux de recherche menes en Algerie*. Cerealiculture, revue technique et scientifique editee par ITGC, 25: 4.
6. Blade S. F., K. Lopetinsky, T. Buss, P. Laflamme, R. El Hafid, R. Bjotklund, and N. Clark (2002): *Field pea/cereal mixed cropping for silage production*. Special Report, Crop Diversification North, AAFRD, Fort Saskatchewan, Alberta.
7. Blakeslee A. F. and A. G. Avery (1937): *Colchicine and double diploids*. Journal of Heredity. Abstract.
8. Blum A (2014): *The abiotic stress response and adaptation of triticale-a review*. Cereal Res Commun 42: 359–375.
9. Boros D. (2002): *Physico-chemical indicators suitable in selection of triticale for high nutritive value*. In E. Arseniuk, ed. Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June–5 July 2002, Vol. I, p. 239. Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute.
10. Chelkowski, J. and M. Tyrka (2003): *Enhancing the resistance of triticale by using genes from wheat and rye*. Journal of Applied Genetics. Poznań, Poland: Journal of Applied Genetics, 45 (3): 283–295.
11. De Boer F. and Bichel H.(1988): *Livestock Feed Evaluation in Europe*. E. A. A. P. Publication. No. 37. Elsevier, Amsterdam: 249–278.

12. Đekić V., M. Milovanović, Đ. Glamočlija, M. Staletić (2009): Mogućnost primene tritikalea u ishrani živine. *XXIII Savetovanje agronoma, veterinara i tehnologa, Beograd, Zbornik naučnih radova*, 15: (1–2), 39–48.
13. Edwards T. (1998): *Triticale: Good for pig rations*. A publication of the S.Australia R & D Inst., Adelaide, 1–3.
14. Fox R.L., S.J.Logue and J.K.Eglinton (2001): *Fermentable sugar profile as an alternative to Apparent Attenuation Limit for selection in Barley Breeding*. Australian Barley Technical Symposium. University of Adelaide, Dept. of Plant Science, PMB 1, Glen Osmond, SA, 5064, Australia, 1–5.
15. Glamočlija, Đ. N., Đurić, N. A., & Glamočlija, N. M. (2017): Tritikale, poreklo, značaj i tehnologija proizvodnje i čuvanja proizvoda. Beograd. Monografija.
16. Glamočlija Đ. et al. (2013): Agriculture in Serbia and Portugal: Recent developments and economic policy implications. Ed. Srdjan Redžepagić and Marta C. N. Simões. Coimbra, Portugal. Monografija.
17. Kowieska A., R. Lubowicki, I. Jaskowska (2011): *Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grain*. Acta Sci. Pol., Zootechnica, 10 (2): 37–50.
18. Laibach F. (1925): *Das Taubwerden von Bastardsamen und die kunstliche Aufzucht friih absterbender Bastardembryonen*. 2. Botanik, 17: 417–459.
19. Lebiezinska A. and P.Szefer (2006): *Vitamins B in grain and cereal–grain food, soy-products and seeds*. Food Chemistry, 95: 116–122.
20. Lorenz K. (2003): *TRITICALE*. Encyclopedia of Food Sci. and Nutrit., 5873–5877.
21. Lorenz K, F. W. Reuter and C. Sizer (1974): *The mineral composition of triticales and triticale milling fractions by X-Ray fluorescence and atomic absorption*. Cereal Chemists. Am. Association of Cereal Chemists, 51: 534–542.
22. Macrae et al. (1993): *Encyclopaedia of Food Science*, Volume 2, Serna-Saldivar.
23. McGlone John and Wilson Pond, (2003): *Pig Production: Biological Principles and Application*. Delmar Learning, New York, 1–397.
24. Mergoum M. and Gomez-Macpherson H, (2004): *Triticale improvement and production*. Food and agriculture organization of the united nations, Rome.
25. Mergoum M, Ryan, J. & Shroyer, J.P. (1992): *Triticale in Morocco: potential for adoption in the semi-arid cereal zone*. J. Nat. Res. Life Sci. Edu., 21: 137–141.
26. Michela P. and K. Lorenz (1974): *The vitamins of triticale, wheat and rye*. Cereal Chemistry, 53(6): 853–861.
27. Morey D. D. (1983): *Amino acid coposition of six grains and winter wheat forage*. Cereal Chemistry, 60 (6): 461–464.
28. Müntzing A. (1979): *Triticale: Results and Problems (Advances in Plant Breeding Series)*. Paperback
29. Myer R. O. (2002): Triticale grain in young pig diets. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland. Plant Breeding and Acclimatization Institute*, 271–276.

30. Pfeiffer W.H. (1994): *Triticale: potential and research status of a manmade cereal crop*. In Background material for the germplasm improvement subprogram external review, Ciudad Obregón, Sonora, Mexico, Wheat Program, Mexico, DF, CIMMYT, 82–92.
31. Poysa V.W. (1985): *Effect of forage harvest on grain yield and agronomic performance of winter triticale, wheat and rye*. Can J Plant Sci. 65: 879–888.
32. Redmon L. A., G. W. Horn, G. J. Krenzer and D. J. Bernardo (1995): *A review of livestock grazing and wheat grain yield: boom or bust*. Agronomy Journal, 87: 137–147.
33. Saade E.M, (1995): *Triticale production and utilization in Tunisia: constraints and prospects*. In CIMMYT Economics Working Paper, Mexico, DF, CIMMYT, 95–104.
34. Sapra V. T., E. G. Heyne and H. D. Wilkins (1972): *Triticale, a man-made species of a crop plant*. Transactions of the Kansas Academy of Science, 74 (1): 52–61.
35. Schwarte A. J., L. R. Gibson, D. L. Karlen, M. Liebman and J. Jannink (2005): *Planting date effects on winter triticale dry matter and nitrogen accumulation*. Agron Journal, 97: 1333–1341.
36. Tikhnenko N. D., N. V. Tsvetkova and A. V. Voylovkov (2002): *The Effect of Parental Genotypes of Rye Lines on the Development of Quantitative Traits in Primary Octoploid Triticale: Plant Height*. Russian Journal of Genetics. Russia: MAIK Nauka/Interperiodica, 31 (1):52–56.
37. Van Barneveld R.J. (2002): *Triticale: a guide to the use of triticale in livestock feeds*. Kingston, Australia, Grains Research Development Corporation.
38. Van Barneveld R.J. & Cooper K.V. (2002): *Nutritional quality of triticale for pigs and poultry*. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002., Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute*, 1:277–282.
39. Varughese G, Pfeiffer W.H. & Peña R.J. (1996a): *Triticale (Part 1): a successful alternative crop*. Cer. Foods World, 41(6): 474–482.
40. Varughese G, Pfeiffer W.H. & Peña R.J. (1996b): *Triticale (Part 2): a successful alternative crop*. Cer. Foods World, 41(7): 635–645.

Rad primljen: 7.5.2017.

Rad odobren: 12.4.2017.

DOI: 10.7251/VETJ1801073G

UDK: 633.1:635.5.085.5

Scientific criticism

THE IMPORTANCE OF TRITICALE IN ANIMAL NUTRITION*

Nataša GLAMOČLIJA^{1*}, Marija STARČEVIĆ², Jelena ĆIRIĆ¹,
Dragan ŠEFER¹, Milica GLIŠIĆ¹, Milan Ž. BALTIĆ¹, Radmila MARKOVIĆ¹,
Marija SPASIĆ³, Đorđe GLAMOČLIJA⁴

1 Dr. Nataša Glamočlija; Dr. Jelena Ćirić; Dr. Dragan Šefer; Milica Glišić; Dr. Milan Ž. Baltić; Dr. Radmila Marković; The Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, Beograd

2 Dr. Marija Starčević; Vojska Srbije, Beograd

3 Dr. Marija Spasić; IEP (Institute for Agricultural Economics), Volgina 15, Beograd

4 Dr. Đorđe Glamočlija; Društvo selekcionara i semenara Republike Srbije, Beograd

*Corresponding author: glamonata@gmail.com

Abstract: Grains have great agronomic and economic importance and they are one of the most important plants. Triticale is modern cereal grain, hybrid of wheat and rye, which inherited the ability of the rye to survive the high frosts, but has a higher protein value than rye, while higher grain yields and increased tolerance to diseases were inherited from wheat. The way in which triticale will be used depends on the characteristics of the variety. Triticale varieties of large and uniform grains which have more proteins than starch are used as concentrated feed for poultry, ruminants and nonruminants. Varieties that form large biomass, similar to rye, can be and are grazed, or harvested for silage or hay and straw. Triticale grain has nutritional value like wheat but with slightly more lysine amino acid. Triticale as a feed grain with good essential amino acid balance, minerals and vitamins is primarily included in livestock diets especially as an energy source. Depending on the type of domestic animal and meal, triticale can be used in significant percentage. The advantage of triticale over other cereals is that it has higher yields, a faster spring growth, and a longer mowing time as a green animal feed, than for example rays or oats. Because of all these advantages, triticale is suitable for planting especially in developing countries.

Key words: triticale, animal nutrition, grain, chemical composition, nutritional value

* The paper was presented at the 22nd Annual Consultation of the Doctors of Veterinary Medicine of the Republic of Srpska (BiH) with international participation

INTRODUCTION

One-year species of grass family (fam. Poaceae) cultivated for grains, but also several species from other botanical families whose fruits are used in a similar way are all classified into a group of grains. Grains with agronomic and economic importance are the most important group of grain plants. Of the relatively new “man-made” grain species,

the most important is a hybrid of wheat and rye called tritcale. Tritcale has inherited the ability of the rye to survive strong frosts, but has a higher protein value (more gluten) (Amaya and Peña, 1991; Boros, 2002; Tikhnenko et al 2002; Chelkowski and Tyrka, 2003). From wheat it has inherited higher yields of grain and increased resistance to ergot.

ORIGIN OF TRITCALE

Tritcale is the first successfully obtained grain that man created by crossing wheat (*Triticum* sp.) and rye (*Secale cereale*), two different types of grain. The first professional (scientific) name of the newly born species was Hexaploid tritcale lat, and it was derived from the name of parental plants. According to Saprai et al, (1972), Scottish botanist Alexander Stephen Wilson (1827-1893) made the first cross between wheat and rye in 1875. This plant never produced fertile hybrid offspring because its parent species didn't have the same number of chromosomes.

Despite this lack, the initial results were interesting for science. After that, a large number of scientists from the field of biological sciences worked on the crossing of different varieties of wheat and rye in order to obtain the best hybrids. According to the scientists' vision, tritcale should have had the best traits of both parents, the bread-baking quality of wheat grains and excellent adaptability of rye to different agroecological and soil conditions, as

well as increased tolerance to pests and pathogens. A new type of grains should have been cultivated with less investment in production technology and would have been suitable for growing in developing countries with the aim of providing larger amounts of basic food for the population. However, modest knowledge in the field of genetics did not provide an answer to solve the problem that arises by crossing different species and as a consequence has a sterile F1 generation (Laibach, 1925). Nevertheless, the expectations of the global public and forecasts were that the newly created grain, thanks to its high fertility potential, would significantly increase food production, both in underdeveloped and developed countries. The famous Swedish geneticist Arne Muntzing (Muntzing, 1979) wrote that it should be expected that the synthetic species of tritcale will join the old grains as food for a significantly larger number of human population and their domestic animals. Based on its morphological and production traits, this species can have higher yields

from parent species, especially in less favorable agroecological conditions and on poorer lands.

The First World War interrupted the work on triticale selection in Europe, but it was continued on the American continent. The International Center for the Improvement of Maize and Wheat (Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo CIMMYT) was established in Mexico. Using the most modern genetic methods, the first problem of poor fertility of the new hybrid was solved. The second step was to increase the quality of grain for human consumption (improved bread-baking properties) and domestic animals consumption (increased content of digestible proteins). By creating winter varieties of high and solid stems with an increased coefficient of productive branching, triticale becomes a very important fodder plant whose biomass is used in the feeding of ruminants as fresh or for storing hay or silage. Some varieties can be used in combination – by grazing and mowing. As fodder, triticale is most commonly grown on the American continent, while in developing countries grains are produced for human consumption (Glamoclija and sar, 2017). Thanks to this scientific center, work on breeding has been consolidated and the results obtained regarding the creation of new triticale genotypes are available to all interested selectors and manufacturers. Since the beginning of work in CIMMYT, more than 200 varieties of triticale have been created and can be used in different

ways (Glamoclija et al, 2017). Today, this Center has research stations in more than 30 countries around the world.

Work on triticale selection in Europe was continued between the two World Wars. Blakeslee and Avery (1937) noted that cross-breeding of wheat as mother plants and rye as pollen donors most often resulted in sterile hybrids. However, when treatment with colchicine induced polyploidy, they concluded that this chemical doubled the number of chromosomes and produced fertile progeny. Based on this knowledge, in 1937, scientist Pierre Civaudron in France perfected the technique of obtaining fertile progeny by crossing wheat and rye. By applying new selection methods, he created a large number of commercial species with good production qualities.

In Serbia, the production of new triticale genotypes, interesting for commercial production, has a decades-long tradition. Our scientists have identified this new species as grain that can be used for human and domestic animals nutrition, as well as in industrial processing. Triticale breeding in our country is done by the institutes, which have provided big banks of genes, or lines of triticale from abroad and from their own crossings (Glamoclija et al, 2013).

THE ECONOMIC CHARACTER OF TRITICALE

The way in which tritcale will be used depends on the characteristics of the species, or to which of the parents it is more similar. Boros (2002) points out that the species of large and same quality grains, which are by chemical composition closer to wheat, are used in human and animal nutrition. Species with large biomass serve to store fodder. Species of large grains with increased total protein content compared to starch are used for the preparation of concentrated animal feed, both for poultry, as well as for nonruminants and ruminants (Belaid, 1994; Myer, 2002; Đekić i sar, 2009). The importance of tritcale in direct human nutrition or indirectly, as fodder, is great. However, world production of tritcale and other grains is not in proportion to the increase in the number of people. The data indicate that in the last few years the total grain production in the world was less than the average, which can

globally cause hunger (Glamoclija and sar, 2017). Cereal production per capita in 2012, due to droughts in Australia and the United States amounted to 294 kg and was the smallest in the past 30 years. Blum (2014) emphasizes that one of the solutions is to increase the area under tritcale due to the fact that this plant can grow on marginal lands, as well as in arid conditions that are becoming more and more widespread as a result of global climate change. Newer generation of tritcale species has significantly improved biological properties and higher quality grains due to increased protein content, especially lysine. These species provide the possibility for wider use in human nutrition, for example, for baking bread mixed with wheat flour, but also for feeding domestic animals by preparation of concentrated feeds of increased nutritional value (Baier and Gustafson, 1996; Aguirre et al., 2002).

THE IMPORTANCE OF TRITICALE IN ANIMAL NUTRITION

Tritcale is used in the diet of domestic and farm animals in many ways. Grains, thanks to the high content of total proteins and carbohydrates, serve to prepare concentrated animal feed (Lorenz, 2003). In the diet of domestic animals, it can replace oats, fodder barley and other cereals. Comparing with the chaff of barley and oats, the grain is far more suitable as concentrated food for poultry and nonruminants due to the higher coefficient of food utilization

(Đekić et al, 2009).

Aboveground biomass is used as voluminous food for ruminants. In that case, tritcale is cultivated as pure crop, but it can also be sown in various mixtures with winter and spring legumes (Poysa, 1985; Blade et al., 2002; Schwarte et al., 2005). The produced biomass is used fresh or for storing silage or hay. Aboveground biomass of tritcale, grown in pure crop or in mixtures, is also used through grazing, most commonly

through pasture (Redmon et al., 1995).

The nutritional value of the grain is as the one of wheat, with slightly more amino acid lysine. Based on current knowledge on triticale grains used in the production of concentrated animal feeds, the best results are achieved in the feeding of poultry (turkeys and chickens) and dairy cattle. As a forage plant, triticale has a higher yield than other real cereals. The highest quality biomass is obtained by mowing the plants at the beginning of ear formation while the highest yield is achieved by a later mowing. In order to increase the protein value of vegetative biomass, triticale should be sown with some of the grain legumes, for example with field pea. The advantage of triticale over other real cereals is a faster spring rise and the possibility of a longer mowing time for green feed, as it grinds later than rye or oats. In Canada and the USA, certain areas under winter species of triticale serve as pasture for domestic animals.

Triticale belongs to carbohydrate, energy-concentrated nutrients. In recent times, beside maize it is one of the most important nutrients and sources of energy in the nutrition of domestic and farmed animals in Serbia. Grains, as well as by-products obtained

by treating triticale, are extremely suitable highly digestible nutrients for domestic and farmed animals because they contain large quantities of starch, and are relatively poor in raw fibers. Ruminants and nonruminants easily digest and absorb triticale protein, as well as other grain cereals. Triticale protein utilization coefficient may be higher than in other cereals. The use of triticale as a source of energy in the diet of monogastric animals often implies the possibility of reducing the needed amount of protein nutrients in their diet. Microbial fermentation of starch from triticale in ruminants' rumen is similar to that of barley and oats, but triticale is better digested enzymatically than other cereals in ruminants' stomach (Fox i sar, 2001).

The average chemical composition of triticale grains is shown in Table 1, the comparative chemical composition and energy value of some wheat grains in Europe is shown in Table 2 (De Boer and Bichel, 1988). The composition and energy value of wheat, triticale and rye in Australia are shown in Table 3 (Edwards, 1998), while the comparative chemical composition of grains of triticale, wheat and rye in America is shown in Table 4 (McGlone and Pond, 2003).

Table 1. Average chemical composition of triticale grains (% of dry matter)

Species	Total protein	Starch	Cellulose	Total lipids	Soluable sugars	Mineral salts
Triticale	10,2-15,6	53-65	2,3-4,5	1,1-2,4	3,7-7,6	1,4-2,9

Table 2. Comparative chemical composition and energy value of triticale and other grains in Europe (g / kg of dry matter)

Indicator	Corn	Wheat	Triticale	Rye	Oat	Millet	Proso
Total proteins	106	130	140	116	120	120	128
Total oils	47	23	22	22	55	35	38
Cellulose	24	27	27	27	112	29	95
BEM	808	802	791	813	680	796	696
Strach	700	680	620	640	440	700	590
Sugars	20	31	55	50	18	15	10
Min.salts	15	18	20	22	33	20	43
Calcium	0,4	0,8	0,9	0,9	1,2	0,4	0,5
Phosphorus	3,1	4,0	3,6	3,2	3,8	3,3	3,4
Energy content (MJ/kg of dry substance)							
ME, ruminants	14,2	14	14	13,9	11,5	13,8	12,7
DE, pigs	16,4	16	15,8	15,7	13,2	15,8	13,6
AME, poultry	15,9	14,8	14,5	12	12,3	15,3	14

BEM-non-essential extractive matter ; ME-metabolizable energy; DE-digestible energy; AME – apparent metabolizable energy for poultry

European species of triticale have higher total protein and sugar content compared to other examined cereals (De Boer and Bichel, 1988).

Table 3. Composition and energy value of wheat, triticale and rye in Australia (expressed in dry matter)

Grain type	Wheat	Triticale	Rye
Digestible arabinoxylans (hemicellulose) %	1.8	1.3	3.4
Nondigestible arabinoxylans (hemicellulose %	6.3	9.5	5.5
Beta glucans, %	0.8	1.7	2.0
Cellulose, %	2.0	2.5	1.5
Total digestible, %	2.4	1.7	4.6
Totalnondigestible, %	9.0	14.6	8.6

Starch, %	66 (54-74)	60 (55-63)	50
Proteins, %	8-22	8-22	8-22
Metabolizable energy, poultry (MJ/kg)	9.0-14.8	14.0-15.2	(14.2)
Digestible energy, pigs (MJ/kg)	16.0	16.0	15.5
Metabolizable energy, ruminants (MJ/kg)	13.5	13.3	13.3

Table 4. Comparative chemical composition of grains of triticale, wheat and rye in America (% regarding the mass of fresh and dried grains)

Compounds	Triticale	Wheat	Rye
Total proteins	10,3-15,6	9,3-16,8	13,0-14,3
Starch	57-65	61-66	54,5
Raw fibers	3,1-4,5	2,8-3,9	2,6
Soluble sugars	3,7-5,2	2,6-3,0	5,0
Mineral salts	1,4-2,0	1,3-2,0	2,1

Triticale, like other grain feeds, is standard part of the meal for domestic and farmed animals, especially when animals need more energy. Depending on the type of domestic animal and the type of meal, triticale can make a significant percentage. By the mid-1980s, triticales were thought to contain a number of antinutritive compounds that reduce the usefulness of other nutrients. Compounds such as pentosans, pectins, tannins, beta glucans are present in triticale, but not to the extent which causes disorders in the digestion system. Nevertheless, the interest in triticale grains has increased due to the high

protein content and better composition of amino acids compared to other cereals used in animal nutrition (Boros, 2002).

Since triticale contains more proteins compared to other cereals (Table 2), it is increasingly used in domestic animal feeds. Triticale grains, in terms of the presence of essential amino acids, certain minerals and vitamins (Table 5), can satisfy a significant proportion of domestic and farmed animals' needs (Morey, 1983; Macrae et al, 1993; Lorenz et al, 1974; Michela and Lorenz, 1974; Lebedzinska and Szefer, 2006; Kowieska et al, 2011).

Table 5. Content of essential amino acids, minerals and vitamins in triticale

Amino acids (g/100g proteina)	Minerals			Vitamins	
Phenylalanine	4,08	K (%)	0,437	B ₁ (thiamine)	0,34-0,38 mg
Histidine		P (%)	0,487	B ₂ (riboflavin)	0,09-0,13 mg
	1,87				
Isoleucine	3,6	Mg (%)	0,190	B ₃ (niacin)	16,2 17,9 µg
Leucine	6,5	Ca (%)	0,033	B ₅ (pantothenic acid)	0,68-0,71 mg
Lysine	3,1	Fe p.p.m.	51,5	B ₆ (pyridoxine)	0,42-0,51 µg
Methionine	1,8	Mn p.p.m.	55,4	B ₉ (folate)	78 µg
Treonine	3,2	Na p.p.m.	45	Provitamin A	0,015-0,017 mg
Tryptophan	1,2	Cu p.p.m.	7,3	Vitamin E (tocopherol)	1,4 mg
Valin	4,5	Zn p.p.m.	26,1		

The grain of triticale is primarily used for the feeding of pigs, poultry, various caged birds, but also of ruminants, horses, rodents, and pets. It is also used for feeding herbivorous fish in fishponds and as supplementary feeding of various game species in hunting grounds during the winter period. The composition of amino acids in triticale regarding nutritional needs is particularly suited to monogastric animals, as well as poultry (birds). Net protein utilization in these animal species can be higher than that one from wheat and other cereals due to high levels of lysine amino acid (Belaid, 1994; Pfeiffer, 1994; Saade, 1995; Varughese et al 1996b). Chemical grain analysis of various new, promising lines of triticale is used in the CIMMYT centre as a screening method to identify

genotypes with a preferred nutritional profile for a particular animal species. Research has been focused on the characterization of the nutritional value of various triticale genotypes and the selection of new varieties with improved biological value (for example, high protein content and metabolizable energy) for a particular animal species (Mergoumand Gomez-Macpherson, 2004). Today's varieties of triticale have more biological characteristics of wheat than rye due to backcrossing of newly created lines with wheat. Morphological properties of grains are more like these of wheat, with a slight variation in the mass of 1,000 seeds. Also, new varieties of triticale have higher starch content in grains, hence the grain is more energy-efficient. However, this has led to a

decrease in the total protein content compared to older varieties. Still, the amount and quality of total proteins in triticale grains are more favorable for feeding domestic animals than in other cereals (Varughese et al., 1996a; Boros, 2002; Van Barneveld, 2002). The grain of triticale is relatively soft, as opposed to hard species of wheat which is almost twice as firm. This can be an advantage in fodder processing. Van Barneveld (2002) emphasizes that soft grains are often attacked by storage pests so that full

attention is to be paid to maintenance during storage.

In many developing countries, straw can be an important source of food for some animals, especially in droughty years when it can even have a higher value than grain (Benbelkacem, 1991; Mergoum et al., 1992). Triticale usually exceeds wheat, barley and other cereals in the amount of straw produced, especially in dry and semi-dry areas (Mergoum et al., 1992).

REFERENCES

1. Aguirre A, O. Badiali, M. Cantarero, A. Leon, P. Ribotta and O. Rubiolo (2002): *Relationship of test weight and kernel properties to milling and baking quality in Argentine triticales*, Cereal Res Commun 30: 203-208.
2. Amaya A. and R. J. Peña (1991): Triticale industrial quality improvement at CIMMYT: past, present and future. In *Proc. 2nd Int. Triticale Symp., Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil*, 412-421.
3. Baier A. C. and J. P. Gustafson (1996): *Breeding strategies for triticale*. In: Triticale: today and tomorrow: developments in plant breeding, Vol. 5. Springer, Berlin, str. 563-569.
4. Belaid A. (1994): *Nutritive and economic value of triticale as feed grain for poultry*. CIMMYT Economics Working Paper 94-01. Mexico, DF, CIMMYT.
5. Benbelkacem A. (1991): *Le triticale et les travaux de recherche menes en Algerie*. Cerealiculture, revue technique et scientifique editee par ITGC, 25: 4.
6. Blade S. F., K. Lopetinsky, T. Buss, P. Laflamme, R. El Hafid, R. Bjotklund, and N. Clark (2002): *Field pea/cereal mixed cropping for silage production*. Special Report, Crop Diversification North, AAFRD, Fort Saskatchewan, Alberta.
7. Blakeslee A. F. and A. G. Avery (1937): *Colchicine and double diploids*. Journal of Heredity. Abstract.
8. Blum A (2014): *The abiotic stress response and adaptation of triticale-a review*. Cereal Res Commun 42: 359-375.
9. Boros D. (2002): *Physico-chemical indicators suitable in selection of triticale for high nutritive value*. In E. Arseniuk, ed. Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002, Vol. I, p. 239. Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute.
10. Chelkowski, J. and M. Tyrka (2003): *Enhancing the resistance of triticale by using*

- genes from wheat and rye*. Journal of Applied Genetics. Poznań, Poland: Journal of Applied Genetics, 45 (3): 283-295.
11. De Boer F. and Bichel H.(1988): *Livestock Feed Evaluation in Europe*. E. A. A. P. Publication. No. 37. Elsevier, Amsterdam: 249-278.
 12. Đekić V., M. Milovanović, Đ. Glamočlija, M. Staletić (2009): Possibility of using triticale in animal nutrition. *XXIII, Meeting of agronomists, veterinarians and technologists, Belgrade, Collection of scientific papers* 15: (1-2), 39-48.
 13. Edwards T. (1998): *Triticale: Good for pig rations*. A publication of the S.Australia R & D Inst., Adelaide, 1-3.
 14. Fox R,L., S.J.Logue and J.K.Eglinton (2001): *Fermentable sugar profile as an alternative to Apparent Attenuation Limit for selection in Barley Breeding*. Australian Barley Technical Symposium. University of Adelaide, Dept. of Plant Science, PMB 1, Glen Osmond, SA, 5064, Australia, 1-5.
 15. Glamočlija, Đ. N., Đurić, N. A., & Glamočlija, N. M. (2017): Triticale, origin, significance and technology of production and storage of products. Belgrade. Monograph.
 16. Glamočlija Đ. et al. (2013): Agriculture in Serbia and Portugal: Recent developments and economic policy implications. Ed. Srdjan Redžepagić and Marta C. N. Simões. Coimbra, Portugal. Monografija.
 17. Kowieska A., R. Lubowicki, I. Jaskowska (2011): *Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grain*. Acta Sci. Pol., Zootechnica, 10 (2): 37-50.
 18. Laibach F. (1925): *Das Taubwerden von Bastardsamen und die kunstliche Aufzucht friih absterbender Bastardembryonen*. 2. Botanik, 17: 417-459.
 19. Lebiezinska A. and P.Szefer (2006): *Vitamins B in grain and cereal–grain food, soy-products and seeds*. Food Chemistry, 95: 116-122.
 20. Lorenz K. (2003): *TRITICALE*. Encyclopedia of Food Sci. and Nutrit., 5873-5877.
 21. Lorenz K, F. W. Reuter and C. Sizer (1974): *The mineral composition of triticales and triticale milling fractions by X-Ray fluorescence and atomic absorption*. Cereal Chemists. Am. Association of Cereal Chemists, 51: 534-542.
 22. Macrae et al. (1993): *Encyclopaedia of Food Science*, Volume 2, Serna-Saldivar.
 23. McGlone John and Wilson Pond, (2003): *Pig Production: Biological Principles and Application*. Delmar Learning, New York, 1-397.
 24. Mergoum M. and Gomez-Macpherson H, (2004): *Triticale improvement and production*. Food and agriculture organization of the united nations, Rome.
 25. Mergoum M, Ryan, J. & Shroyer, J.P. (1992): *Triticale in Morocco: potential for adoption in the semi-arid cereal zone*. J. Nat. Res. Life Sci. Edu., 21: 137-141.
 26. Michela P. and K. Lorenz (1974): *The vitamins of triticale, wheat and rye*. Cereal Chemistry, 53(6): 853-861.
 27. Morey D. D. (1983): *Amino acid coposition of six grains and winter wheat forage*.

- Cereal Chemistry, 60 (6): 461-464.
28. Müntzing A. (1979): *Triticale: Results and Problems (Advances in Plant Breeding Series)*. Paperback
 29. Myer R. O. (2002): Triticale grain in young pig diets. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland. Plant Breeding and Acclimatization Institute*, 271-276.
 30. Pfeiffer W.H. (1994): *Triticale: potential and research status of a manmade cereal crop*. In Background material for the germplasm improvement subprogram external review, Ciudad Obregón, Sonora, Mexico, Wheat Program, Mexico, DF, CIMMYT, 82-92.
 31. Poysa V.W. (1985): *Effect of forage harvest on grain yield and agronomic performance of winter triticale, wheat and rye*. Can J Plant Sci. 65: 879-888.
 32. Redmon L. A., G. W. Horn, G. J. Krenzer and D. J. Bernardo (1995): *A review of livestock grazing and wheat grain yield: boom or bust*. Agronomy Journal, 87: 137-147.
 33. Saade E.M, (1995): *Triticale production and utilization in Tunisia: constraints and prospects*. In CIMMYT Economics Working Paper, Mexico, DF, CIMMYT, 95-104.
 34. Sapra V. T., E. G. Heyne and H. D. Wilkins (1972): *Triticale, a man-made species of a crop plant*. Transactions of the Kansas Academy of Science, 74 (1): 52-61.
 35. Schwarte A. J., L. R. Gibson, D. L. Karlen, M. Liebman and J. Jannink (2005): *Planting date effects on winter triticale dry matter and nitrogen accumulation*. Agron Journal, 97: 1333-1341.
 36. Tikhnenko N. D., N. V. Tsvetkova and A. V. Voylovkov (2002): *The Effect of Parental Genotypes of Rye Lines on the Development of Quantitative Traits in Primary Octoploid Triticale: Plant Height*. Russian Journal of Genetics. Russia: MAIK Nauka/Interperiodica, 31 (1):52-56.
 37. Van Barneveld R.J. (2002): *Triticale: a guide to the use of triticale in livestock feeds*. Kingston, Australia, Grains Research Development Corporation.
 38. Van Barneveld R.J. & Cooper K.V. (2002): *Nutritional quality of triticale for pigs and poultry*. In E. Arseniuk, ed. *Proc. 5th Int. Triticale Symp., Radzikow, Poland, 30 June-5 July 2002., Radzikow, Poland, Plant Breeding and Acclimatization Institute*, 1:277-282.
 39. Varughese G, Pfeiffer W.H. & Peña R.J. (1996a): *Triticale (Part 1): a successful alternative crop*. Cer. Foods World, 41(6): 474-482.
 40. Varughese G, Pfeiffer W.H. & Peña R.J. (1996b): *Triticale (Part 2): a successful alternative crop*. Cer. Foods World, 41(7): 635-645.

Paper received: 07.5.2017.

Paper accepted: 12.4.2017.

DOI: 10.7251/VETJ1801095G

UDK:619:[6:061.62(497.6)]"2017"

Оригинални научни рад

КАПАЦИТЕТИ АКРЕДИТОВАНИХ ИСПИТНИХ ДИЈАГНОСТИЧКИХ ВЕТЕРИНАРСКИХ ЛАБОРАТОРИЈА У БОСНИ И ХЕРЦЕГОВИНИ У 2017. ГОДИНИ, СА СТАНОВИШТА ДИЈАГНОСТИЧКИХ ИСПИТИВАЊА У ВЕТЕРИНАРСТВУ, У ОДНОСУ НА ПОДРУЧЈА АКРЕДИТАЦИЈЕ

Бојан ГОЛИЋ^{1*}, Драго НЕДИЋ¹, Слободан ДОЈЧИНОВИЋ¹

1 Др Бојан Голић спец. др вет.; Проф. др Драго Н. Недић, др вет.; Др Слободан Дојчиновић спец. др вет. Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бранка Радичевића 18, 78000 Бања Лука, Република Српска, БиХ

* Коресподентни аутор: Др Бојан Голић спец. др вет., bojan.golic@virs-vb.com

Кратак садржај: Акредитовање подразумејева формално признање да је неко тијело за оцјењивање усаглашености (лабораторија) компетентно да спроводи активности оцјењивања усаглашености у складу са међународно прихваћеним правилима. Институт за акредитовање БиХ (БАТА) спроводи акредитовање тијела за оцјењивање усаглашености у Босни и Херцеговини (БиХ).

Испитне дијагностичке ветеринарске лабораторије подразумејевају лабораторије које се баве испитивањем материјала поријеклом од животиња.

Циљ испитивања је утврдити капацитете акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија у БиХ у односу на области испитивања, односно подручја акредитације. На овај начин добио би се јасан увид у спремност испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија да одговоре захтјевима са становишта контроле здравља животиња, у циљу заштите здравља животиња и људи.

Током 2017. године у БиХ укупно је било акредитовано шест дијагностичких ветеринарских лабораторија, по три у Републици Српској и Федерацији БиХ.

Од укупно седам акредитованих подручја испитивања у БиХ, лабораторије у Републици Српској акредитовале су свих седам подручја (100%), а у Федерацији БиХ акредитовале су шест подручја (85,70%). У испитним дијагностичким ветеринарским лабораторијама у БиХ укупно је акредитована 41 различита испитна метода. Од тога је у Републици Српској акредитовано 30 испитних метода (73,20%), а у Федерацији БиХ 31 метода (75,60%).

Када су у питању различите области ветеринарских дијагностичких испитивања, БиХ посједује капацитете у виду акредитованих лабораторија да одгово-

ри на ове захтјеве, а посебно су значајни капацитети за серолошка (100% акредитованих лабораторија), бактериолошка (66,70% акредитованих лабораторија) и паразитолошка испитивања (50% акредитованих лабораторија). У односу на укупан број акредитованих испитних метода, према врсти животиња, највише испитних метода акредитовано је за дијагностику болести говеда (у Републици Српској 36,70%, у Федерацији БиХ 38,70%, а на нивоу БиХ 33,30%), затим за дијагностику болести оваца и коза и болести птица.

Кључне ријечи: акредитација, испитне лабораторије, ветеринарска дијагностика.

УВОД

Акредитовање тијела за оцјењивање усаглашености у Босни и Херцеговини (БиХ) спроводи Институт за акредитовање БиХ (БАТА) (12). БАТА је надлежна да развија, проводи и одржава Систем акредитовања БиХ (САБиХ), спроводи процедуру акредитовања и надзора тијела за оцјењивање усклађености, заступа БиХ у европским и међународним организацијама за акредитовање, организује и спроводи специјалистичко образовање кадрова у подручју акредитовања, те развија и успоставља информациони систем о додијељеним акредитацијама те о документима из подручја акредитовања.

Акредитација је документ на основу којег се доказује компетентност за обављање одређених задатака у подручју оцјењивања усклађености (8). Акредитовање подразумијева формално признање да је неко тијело за оцјењивање усклађености компетентно да спроводи активности оцјењивања усаглашености у складу са међународно прихваћеним правилима. Оцјењи-

вање усклађености је свака дјелатност преко које се непосредно или посредно утврђује да ли су испуњени релевантни захтјеви, а тијело за оцјењивање усклађености је од добављача независна лабораторија, тијело за сертифицивање, инспекцијско тијело или неко друго тијело које учествује у процедури оцјењивања усклађености и које може бити државно тијело, правна или физичка особа. У току процедуре акредитовања утврђује се компетентност правних и физичких лица, које могу представљати у цјелости, или само једним својим дијелом, тијело за оцјењивање усклађености, у односу на захтјеве БиХ, европских и међународних стандарда, односно докумената европских и међународних организација за акредитацију.

БАТА утврђује критеријуме за одобравање и одржавање акредитације које морају испуњавати Тијела за оцјену усклађености (ТОУ), процес спровођења акредитовања те финансирање система акредитовања (15). Акредита-

ција лабораторија осигурава повјерење у резултате лабораторијских испитивања, а врши се према стандарду BAS EN ISO/IEC 17025:2006 (1). У оквиру САБиХ, могу се акредитовати испитне лабораторије, калибрационе лабораторије, медицинске лабораторије, инспекцијска тијела, тијела која обављају сертификавање производа, тијела за сертификавање особља и тијела за сертификавање система управљања.

Под дијагностичким ветеринарским лабораторијама подразумевају се лабораторије које се баве испитивањем материјала поријеклом од животиња (9–11). Ово су лабораторије које спроводе дијагностичка испитивања заразних болести, откривање остатака штетних материја у животињама и производима животињског поријекла, води и крмивима, испитивање здравствене и хигијенске исправности и квалитета хране, сточне хране и других испити-

вања (13), односно бактериолошка, сеполошка, вирусолошка, паразитолошка, хемијска, биохемијска, физичка, патолошка и радиолошка испитивања у ветеринарској дјелатности, испитивања здравствене исправности хране животињског поријекла и хране за животиње (11).

Дијагностичке ветеринарске лабораторије морају акредитовати методе које користе у раду, у складу са стандардом BAS EN ISO/IEC 17025:2006 (11, 14). Дијагностичка испитивања у ветеринарству у БиХ обављају овлаштене лабораторије у државном (ДВ) и приватном власништву (ПВ), у оба ентитета, Републици Српској (РС) и Федерацији Босне и Херцеговине (ФБиХ), у складу са Законом о ветеринарству (9–11) и другим подзаконским актима. У Брчко дистрикту (БД) није акредитована ниједна ветеринарска дијагностичка лабораторија.

ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСПИТИВАЊА

Циљ испитивања је утврдити капацитете акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија у БиХ у односу на области испитивања односно подручја акредитације, са становишта дијагностичких испитивања у ветеринарству. На овај начин добио би се јасан увид у спремност испитних дијагностичких ветеринар-

ских лабораторија да одговоре захтјевима са становишта контроле здравља животиња, а у циљу заштите здравља животиња и људи. У ово истраживање нису узети у обзир подаци у вези акредитованих подручја и испитних метода који се односе на контролу хране и хране за животиње.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Материјал

Као материјал за испитивање коришћени су Додаци акредитацији акре-

дитованих испитних лабораторија у БиХ, преузети са веб стране БАТА (17).

Лабораторије са територије РС:

I Државно власништво (ДВ)

1. Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“, Бања Лука (2)

II Приватно власништво (ПВ)

1. Ветеринарски завод „Теолаб“, Бијељина (3)
2. Славен д.о.о. Ветеринарски завод, Бања Лука (4)

Лабораторије са територије ФБиХ:

I Државно власништво

1. Јавна установа „Ветеринарски завод“ Бихаћ, Бихаћ (5)
2. Ветеринарски факултет Универзитета у Сарајеву, Сарајево (6)
3. Јавна установа „Ветеринарски завод Тузланског кантона“, Тузла (7)

Лабораторије су приказане према регистрованом називу и сједишту правног лица, без навођења њихових регионалних локација и организационих јединица које су акредитоване.

Методe

У нашем истраживању и у статистичкој анализи добијених резултата користили смо, као основне статистичке методе, дескриптивне статистичке параметре. Ови параметри омогућавају описивање добијених резултата и њихово тумачење. Резултати истраживања приказани су табеларно и графички. Статистичка анализа резултата урађена је у статистичком пакету Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У БиХ укупно је 6 акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија (АДВЛ), по три у РС и ФБиХ, док у Брчко дистрикту (БД) не постоји ниједна АДВЛ (Табела 1). Од њих, једна АДВЛ је образовна и научна установа (6), три су јавне установе (2, 5, 7), све четири у ДВ, док су преостале

две АДВЛ у ПВ (3, 4). Од јавних установа, једна је специјалистичка и научна установа организована као ветеринарски институт (2), док су преостале две, као и две у ПВ, организоване као ветеринарски заводи (3–5, 7). Однос АДВЛ међу ентитетима (РС према ФБиХ) је 1:1.

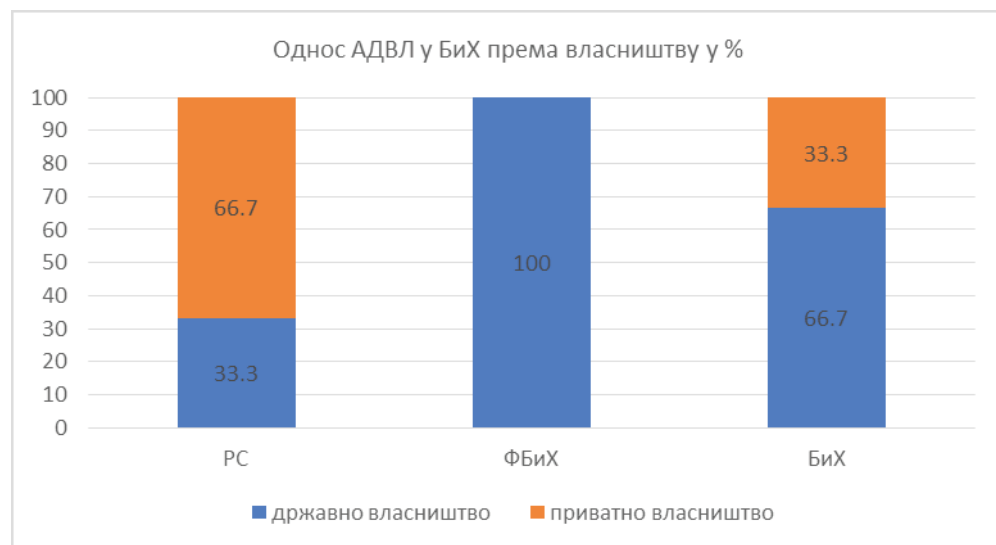
Табела 1. Акредитоване испитне дијагностичке ветеринарске лабораторије у БиХ

Локација	Број АДВЛ	%
РС	3	50
ФБиХ	3	50
БД	0	0
Укупно БиХ	6	100

У Табели 2. и Графикону 1. приказан је бројчани и процентуални однос АДВЛ у БиХ према власништву.

Табела 2. Бројчани однос АДВЛ у БиХ према власништву

Локација	Број	
	ДВ	ПВ
РС	1	2
ФБиХ	3	0
БиХ	4	2



Графикон 1. Процентуални однос АДВЛ у БиХ према власништву

У РС је 33,30% АДВЛ у ДВ, наспрам 66,70% у ПВ (1:2). Овај однос је значајно другачији у ФБиХ, гдје је 100% АДВЛ у ДВ, тј. АДВЛ у ПВ не постоје. На нивоу БиХ однос АДВЛ, када је у питању државно и приватно власништво, јесте 2:1. На основу ових података може се закључити да се у ФБиХ послови тј. лабораторијска испитивања од јавног интереса за здравље животиња, посље-

дично и људи, обављају искључиво у АДВЛ у ДВ. Супротно овоме, РС се, поред сопствених (државних), веома значајних лабораторијских капацитета, већински ослања на лабораторије у ПВ.

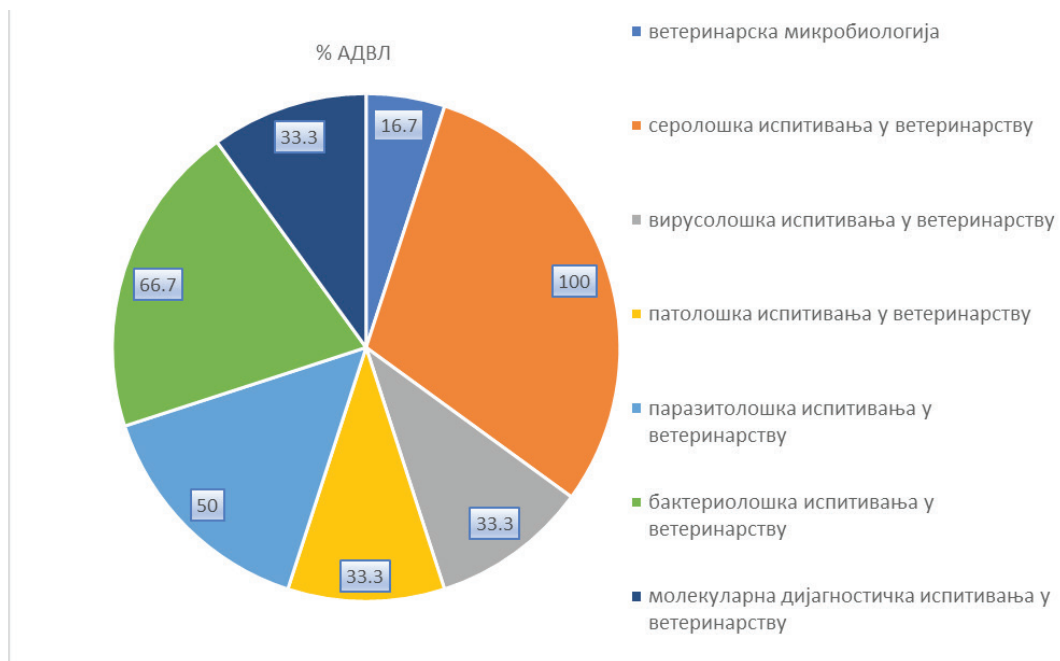
У Графикону 2. приказано је учешће АДВЛ у БиХ по ентитетима у односу на власништво.



Графикон 2. Учешће АДВЛ у БиХ по ентитетима у односу на власништво

Од укупног броја АДВЛ у ДВ у БиХ, у РС је 25%, а у ФБиХ је 75% (1:3). У РС постоје две АДВЛ у ПВ, док их у ФБиХ нема. Једна АДВЛ у ДВ у РС акредитовала је методе на две локације (2), што практично значи да су то двије просторно одвојене лабораторије. Узимајући овај податак у обзир, то значајно мијења однос АДВЛ те он износи РС:ФБиХ=1:1,5.

У Графикону 3. приказана је процентуална заступљеност АДВЛ у БиХ у односу на подручја акредитације.



Графикон 3. Заступљеност АДВЛ у БиХ у односу на подручја акредитације

Када су у питању различите области ветеринарских дијагностичких испитивања, БиХ посједује капацитете у виду АДВЛ да одговори на ове захтјеве, а посебно су значајни капацитети за серолошка (100% акредитованих лабораторија), бактериолошка (66,70% акредитованих лабораторија) и паразитолошка испитивања (50% акредитованих лабораторија).

Када су у питању серолошка, вирусолошка, патолошка и молекуларна дијагностичка испитивања у ветеринарству, однос лабораторија у РС и у ФБиХ је подједнак, 1:1. Међутим, док су вирусолошка, патолошка и молекуларна дијагностичка испитивања акредитовале по једна лабораторија из оба

ентитета (2, 6), серолошка испитивања акредитовале су све лабораторије. У ФБиХ су, такође, све лабораторије акредитовале бактериолошка испитивања у ветеринарству, те је однос према лабораторијама у РС 3:1. Имајући у виду податак да је једна лабораторија из РС ова испитивања акредитовала под другим подподручјем акредитације тј. Ветеринарска микробиологија (4), тај однос реално износи 1,5:1. Однос лабораторија које обављају паразитолошка испитивања у ветеринарству у РС и ФБиХ износи 1:2.

Посматрајући подручја акредитације, одмах се уочава да су све лабораторије акредитовале серолошка испитивања у ветеринарству. Ово је оче-

кивано с обзиром на то да су ова испитивања, на првом мјесту, најпрофитабилнија. Поред овог, она су најзаступљенија, обухватају велики број испитивања (мониторинг, млијечни картон, контрола вакцинације), методе су стандардне (OIE Manual), имају кратко вријеме трајања испитивања (од неколико часова до један или два дана најчешће), потребна су најмања улагања (опрема, простор, потрошни материјал, контрола квалитета), дијагностикуми су приступачни цијеном, комплетни, омогућавају велики број испитивања са могућношћу „пулирања“ узорака. С друге стране, ова испитивања, изузев малог броја метода, односно техника испитивања и испитиваних параметара, оријентациона су („screening“). Ово практично значи да у већини случајева, у циљу добијања коначног резултата, сваки позитиван резултат добијен серолошким испитивањем, треба потврдити, односно извршити испитивање потврдним (конфирмационим) методама. Насупрот серолошким испитивањима односно оријентационим методама, јесу вирусолошка и молекуларна дијагностичка испитивања, с потврдним методама, која су веома мало заступљена у лабораторијама као подручја акредитације. И ово је очекивано с обзиром на то да су ова испитивања веома захтјевна по питању ресурса. Захтјеви за простором су обимни, потребно је веома оспособљено и искусно особље, софистицирана и веома скупа лабораторијска опрема, скупи дијагностикуми (често не долазе у комплекту, састоје се

из више компоненти), контрола квалитета је захтјевна. Дужина трајања испитивања није пресудна јер износи најчешће, као и код серолошких испитивања, од неколико часова до један, два, а понекад и више дана, рјеђе неколико седмица. С друге стране, захтјеви за овим испитивањима су веома ријетки. Ово практично значи да вирусолошка и молекуларна дијагностичка испитивања у ветеринарству уопште нису исплатива, јер остварена добит од извршених лабораторијских испитивања не може да покрије трошкове улагања у потребне ресурсе нити трошкове одржавања спремности лабораторије за овим испитивањима. Ова испитивања, због тога, у свим лабораторијама које обављају ова испитивања, егзистирају на рачун других подручја испитивања (углавном серолошких). Такође, патолошка испитивања у ветеринарству веома су мало заступљена како у рутинском раду, тако и у подручју акредитације. Разлози за ово се више проналазе у веома малом броју захтјева за овом врстом испитивања, док по питању ресурса, ова испитивања нису сувише захтјевна. Патолошка испитивања у ветеринарству акредитовале су по једна лабораторија у РС (2) и ФБиХ (6) и то веома сродна испитивања тј. дијагностикуми исте болести, али различитим испитним методама. У питању је дијагностика ТСЕ методом Priostrip и EIA.

У вези ових испитивања, али и осталих, мишљења смо да подподручја акредитације која су у оквиру техничког подручја „Испитивања у ветери-

нарству“ нису добро дефинисана, јер су кориштени различити критеријуми (група узрочника болести – бактерије и вируси; област испитивања – патологија и паразитологија; технике испитивања у зависности од врсте узорка – серологија и сл.). Прије свега, сматрамо да је термин „ветеринарство“ неодговарајући, јер овај термин уопште не постоји у стручној терминологији када је у питању ветеринарска медицина. Термин који се користи у стручној и научној јавности, а односи се на ветеринарску дјелатност, је „ветеринарска медицина“, те предлажемо да се у складу с овим, уради измјена назива овог техничког подручја у „Испитивања у ветеринарској медицини“, а које би обухватало сва испитивања из области ветеринарске медицине. У оквиру техничког подручја Испитивања у ветеринарству, тренутно постоје следећа техничка подручја: „Серологија“, „Вирусологија“, „Хистологија“, „Патологија“, „Паразитологија“, „Бактериологија“ и „Дијагностичка испитивања“, а у оквиру техничког подручја „Молекуларно-биолошка испитивања“ још једно подручје под називом „Молекуларна дијагностичка испитивања у ветеринарству“ (16). Дијагностика ТСЕ сврстана је у подручје „Патолошка испитивања у ветеринарству“, закључујемо, првенствено на основу унутрашње организације АДВЛ (2, 6), иако ова испитивања имају веома мало везе с овим испитивањима, уколико узмемо у обзир технике испитивања (Priostrip, EIA), које се заснивају на имунолошким реакцијама. У овом случају није

узет ни узрочник нити техника испитивања као фактор који одређује техничко подручје, већ искључиво спознаја да су ова испитивања у ветеринарским дијагностичким лабораторијама прво и углавном почела да се спроводе у лабораторијама за патолошка испитивања. У вези овога треба споменути техничко подручје „Молекуларна дијагностичка испитивања у ветеринарству“, а које је од стране БАТА сврстано не у техничко подручје „Испитивања у ветеринарству“, него у техничко подручје „Молекуларно-биолошка испитивања“ (16). Испитне методе из овог техничког подручја акредитовале су двије АДВЛ (2, 6). Такође, када су у питању вирусолошка испитивања у ветеринарству, постоји примјер АДВЛ када су на основу испитиваног параметра, испитивања ELISA и IHA тестом, придодата истима (6), док су код свих осталих АДВЛ, испитивања ELISA тестом сврстана у техничко подручје „Серолошка испитивања у ветеринарству“ (2–5, 7). Слична ситуација је и с испитивањем параметра *Salmonella spp.* у фецесу и брисевима, при чему је једна АДВЛ из РС акредитовала ову методу у подручју „Бактериолошка испитивања у ветеринарству“ (2), а друга АДВЛ је акредитовала ову исту методу у подручју „Ветеринарске микробиологије“ (3), док су све три АДВЛ у ФБиХ акредитовале ову методу у подручју „Бактериолошка испитивања у ветеринарству“ (5–7). Овом приликом потребно је напоменути да термин ветеринарска микробиологија као подручје акредитације није јасан,

збуњујући је и у овом контексту погрешан. Наиме, термин ветеринарска микробиологија у ужем смислу, жаргонски, односи се на бактериолошка испитивања, док у ширем смислу он обухвата бактериологију, вирусологију и микологију, тј. односи се на веома широко подручје у ветеринарској медицини. Такође, серологија је овим ширим значењем обухваћена, али не као стварна област микробиологије, него више као област испитивања која обухвата технике испитивања засноване на једној врсти узорка тј. крвном серуму (серум – серологија), а којима се, директно или индиректно, доказује присуство бактерија, вируса и паразита. У вези термина подручја „Серолошка испитивања у ветеринарству“, као и код патолошких, сматрамо да је формиран на основу унутрашње организације самих дијагностичких ветеринарских лабораторија (2, 6), а не на основу реалне стручне анализе и процјене. Када се разматра подручје „Дијагностичка испитивања“ (16), није јасно шта се под њим подразумева, да ли су то клиничка испитивања која подразумевају рад с пацијентима тј. живим животињама, да ли су то испитивања која су проистекла из конкретног случаја, а у току клиничког прегледа животиње, с циљем постављања дијагнозе или су то остала лабораторијска испитивања која се не могу сврстати ни у једно од осталих подручја. Сматрамо да је овај термин неприкладан јер је уопштен, неодређен и може се односити на сва остала испитивања односно техничка подручја у подручју „Ис-

питивања у ветеринарству“. Генерално, термин дијагноза означава дефинисање узрока обољења односно болесностања (болести), а поставља се на основу анамнестичких података, клиничког прегледа и лабораторијских анализа. Такође, подручје „Патолошка испитивања“ дискутабилно је у погледу назива, с једне стране што није јасно шта би у ова испитивања, поред обдукције животиња, уопште спадало, а с друге стране што се у ово подручје сврстава искључиво дијагностика приона, независно од испитне методе, односно технике испитивања. Уколико се пође од претпоставке да сваки узрочник болести код животиња изазива одређене патолошке промјене, онда би, по тој логици, свако испитивање могло да се сврста у патолошко. Значи, у овом случају, код поменутих метода, није ријеч о утврђивању патолошких промјена, него о утврђивању присуства узрочника, као и код нпр. серолошких, паразитолошких, бактериолошких и других испитивања. Патолошке промјене, подсјећамо, утврђују се искључиво макроскопски (голим оком, извођењем обдукције) и микроскопски (припремом и прегледом хистолошких и патохистолошких исјечака). Све ово оставља недоумицу и знак питања како за будуће акредитовање појединих врста испитивања (имуноензимска, имунолошка, миколошка), тако и за нека која су већ акредитована (ELISA тест, прионске болести и сл.). Ово, с једне стране, указује на неадекватност БАТА докумената у погледу техничких подручја и подручја акредитације која

се односе на испитивања из области ветеринарске медицине, а с друге стране, недоследност у поступању техничких експерата, оцјењивача и водећих оцјењивача БАТА, односно непоступање по истом принципу. Коначно, БАТА није дефинисала критеријуме, на основу којих би се акредитоване испитне методе сврставале у одговарајуће техничко подручје и подподручје. Генерално, сматрамо да је потребна ревизија БАТА документа који дефинише техничка подручја и подподручја у ветеринарству, у смислу адекватности њихових назива. На првом мјесту потребно је одредити приступ, односно одредити на основу којих параметара формирати техничка подподручја у ветеринарству, да ли на основу испитиваног параметра, области испитивања, матрикса (врсте узорка) или технике испитивања. Мишљења смо да треба потпуно занемарити унутрашњу организацију АДВЛ у овом погледу, јер су АДВЛ различито организоване. У сваком случају, када се једном формирају техничка подподручја, треба избјећи двоструке стандарде, односно приступе приликом сврставања испитних метода у исте. Уколико се пође са становишта области испитивања, напомињемо да бактериолошка, миколошка и вирусолошка испитивања спадају у микробиолошка испитивања, те не могу истовремено да постоје као подподручја с микробиолошким. Бактериолошка, миколошка, вирусолошка, прионска и паразитолошка испитивања, појединачно, могу да се спроводе различитим испитним техни-

кама (ELISA, AGID, Rose Bengal, PCR, Real time PCR, EIA, ELFA и сл.). Уколико је матрикс фактор који дефинише техничко подподручје, треба бити веома опрезан код назива серолошких испитивања, јер серолошка испитивања подразумевају испитивања крвног серума као матрикса, а многе од испитних метода, поред крвног серума, узимају као матрикс и крвну плазму, пуну крв, млијеко или млијечни серум. ELISA методом, као типичним представником „серолошких испитивања“, могу се директно (антиген) и индиректно (антитијела) доказивати болести бактеријске, вирусне, прионске и паразитске етиологије, без обзира на матрикс (врсту узорка). На ове проблеме и примјере већ смо указивали 2016. године на хармонизацијским састанцима, међутим, БАТА образложење је да она тренутно нема довољно ресурса и да је потребно активирати спољашње сараднике у циљу свеобухватне анализе и дискусије по овом питању. С обзиром на то да БАТА има неколико техничких експерата из области ветеринарске медицине који активно учествују у раду БАТА као технички експерти и оцјењивачи у поступку акредитовања дијагностичких ветеринарских лабораторија, став БАТА по овом питању није одржив, с обзиром на то да већ користи њихова стручна знања. Све ово указује на неопходност да и остале АДВЛ по овом питању покрену иницијативу према БАТА и узму учешће у прилагођавању и јасном дефинисању техничких подручја и подподручја у области ветеринарске меди-

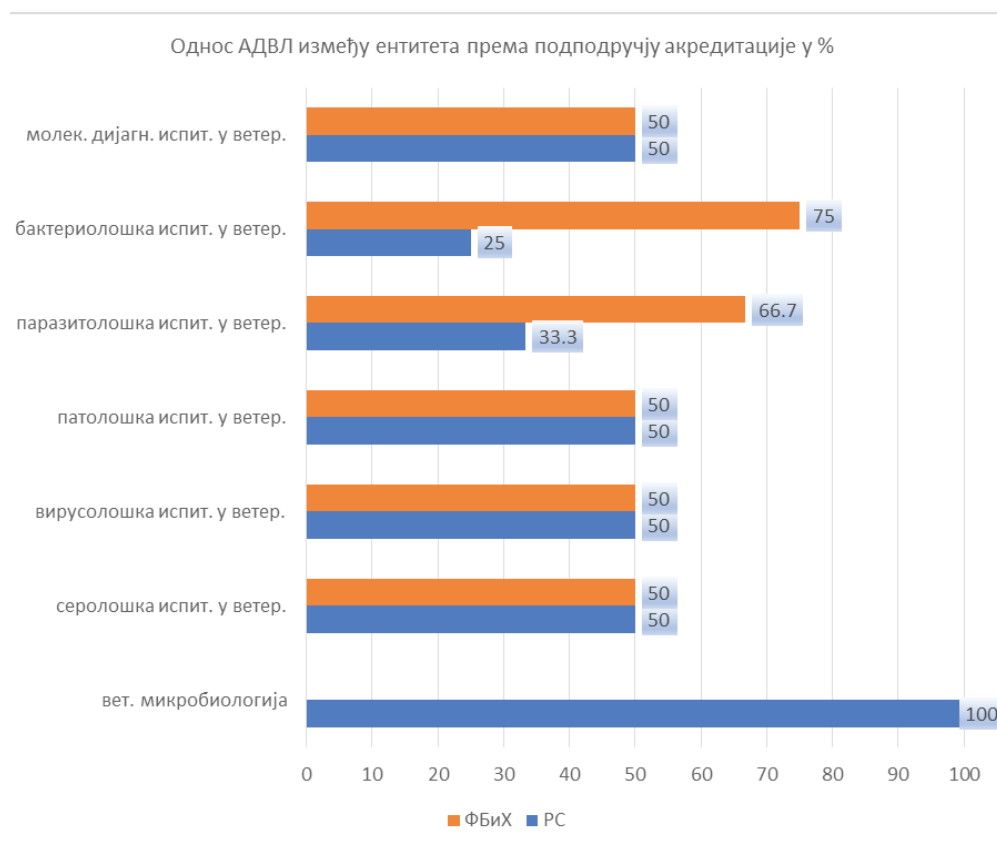
цине, у циљу њихове хармонизације и ујединаченог приступа акредитовању ових подручја. На основу изнесеног, као и знања из области ветеринарске медицине, размишљања смо да би техничка подподручја требало формирати према ширим областима и њиховим одређеним специфичностима, те предложимо следећа техничка подподручја испитивања: паразитолошка, молекуларна, имунолошка, патолошко-хистолошка и биохемијска дијагностика, и на крају изолација и идентификација микроорганизама. Подподручје паразитолошке дијагностике обухватало би испитне методе које се искључиво заснивају на макроскопској и микроскопској идентификацији паразита. Подподручје молекуларне дијагностике обухватало би испитне методе, независно од PCR технике, а којима се доказује присуство генома микроорганизама и паразита. Подподручје имунолошке дијагностике обухватало би све испитне методе које се заснивају на

имунолошким реакцијама, независно од узрочника који се директно или индиректно доказује. Подручје патолошко-хистолошке дијагностике обухватало би, с једне стране, патоморфолошку дијагностику, а, с друге стране, испитне методе засноване на припреми и прегледу хистолошких и патохистолошких исјечака. Подподручје биохемијске дијагностике обухватало би испитне методе којима се утврђују биохемијски параметри у ткивима, тјелесним течностима, секретима и екскретима. Подподручје изолације и идентификације микроорганизама обухватало би испитне методе које се заснивају на изолацији и микроскопској идентификацији микроорганизама.

У Графикону 4. приказан је процен-туални однос АДВЛ између ентитета према подподручју акредитације.

Б. Голић и сар.:

Капацитети акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија у Босни и Херцеговини у 2017. години, са становишта дијагностичких испитивања у ветеринарству, у односу на подручја акредитације

**Графикон 4. Однос АДВЛ између ентитета према подручју акредитације**

Од укупно седам акредитованих подручја испитивања у БиХ, лабораторије у РС акредитовале су свих седам подручја (100%), а у ФБиХ шест подручја (85,70%). Када је у питању ФБиХ, сва акредитована подручја из области ветеринарских дијагностичких испитивања обављају се искључиво у лабораторијама у ДВ. У РС ово је случај код вирусолошких, молекуларно дијагностичких, паразитолошких и бактериолошких испитивања. Лабораторије у ПВ обављају ис-

кључиво испитивања из подручја ветеринарске микробиологије, док је у подручју серолошких испитивања однос 1:2 у корист лабораторија у ПВ. На нивоу БиХ, вирусолошка, молекуларно дијагностичка, патолошка, паразитолошка и бактериолошка испитивања обављају се искључиво у лабораторијама у ДВ, у подручју ветеринарске микробиологије искључиво у лабораторијама у ПВ, док у подручју серолошких испитивања већином у лабораторијама у ДВ (2:1).

У Табели 3. приказан је процентуал-ни однос АДВЛ у ДВ и ПВ у БиХ према подподручју акредитације.

Табела 3. Однос АДВЛ у ДВ и ПВ у БиХ према подподручју акредитације

Подподручје акредитације	%					
	РС		ФБиХ		БиХ	
	ДВ	ПВ	ДВ	ПВ	ДВ	ПВ
ЛИ 3.6 Ветеринарска микробиологија	0	100	0	0	0	100
ЛИ 4.1 Серолошка испитивања у ветеринарству	33,30	66,70	100	0	66,70	33,30
ЛИ 4.2 Вирусолошка испитивања у ветеринарству	100	0	100	0	100	0
ЛИ 4.5 Патолошка испитивања у ветеринарству	100	0	100	0	100	0
ЛИ 4.6 Паразитолошка испитивања у ветеринарству	100	0	100	0	100	0
ЛИ 4.7 Бактериолошка испитивања у ветеринарству	100	0	100	0	100	0
ЛИ 19.2 Молекуларна дијагностичка испитивања у ветеринарству	100	0	100	0	100	0

На нивоу БиХ, лабораторије у ДВ акредитовале су 6 подподручја (85,70%), док су лабораторије у ПВ акредитовале 2 подподручја (28,60%). Од укупног броја акредитованих подподручја у РС, у 71,40% подподручја доминирају лабораторије у ДВ, у 14,30% једнак је однос лабораторија у ДВ и ПВ, док су у 14,30% доминантне лабораторије у ПВ. Лабораторије у ПВ доминирају у подподручју серолошких испитивања, очекивано, с обзиром на карактеристике ових испитивања, а на првом мјесту је профитабилност, која је и основни разлог постојања лабораторија у ПВ. За разлику од РС, у ФБиХ сва дијагностичка испитивања у ветеринарству обављају лабораторије у ДВ (100%). На нивоу БиХ лабораторије у

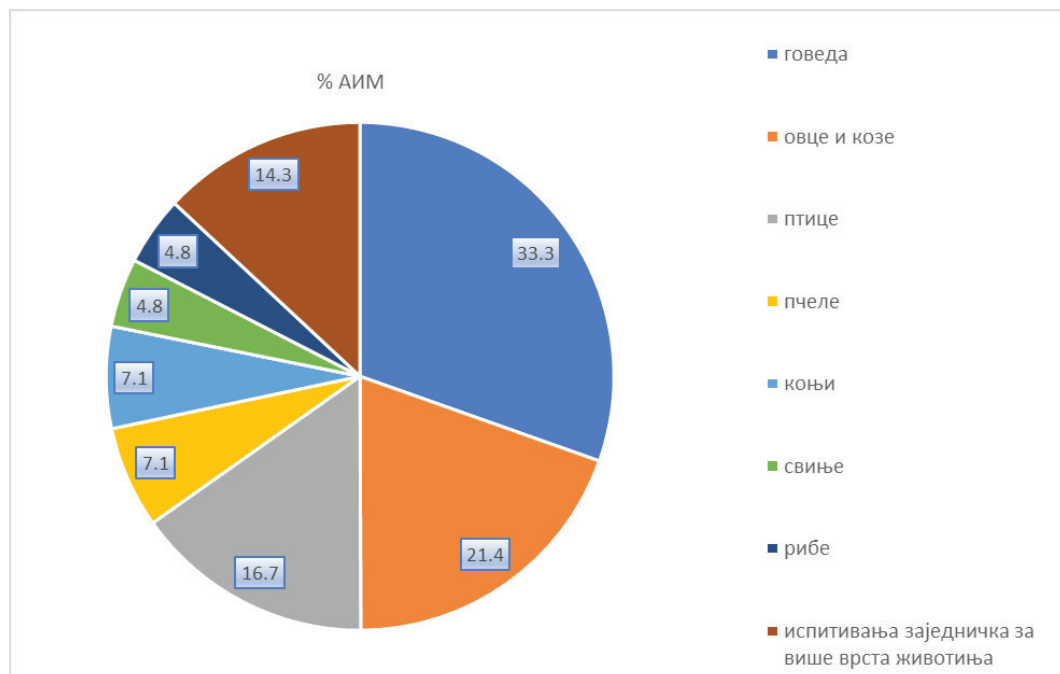
ДВ су доминантне у 85,70% подручја, а у ПВ су доминантне у 14,30% подручја. Анализом акредитованих подподручја акредитације уочава се да су лабораторије у ДВ акредитовале методе у већини подподручја, док су лабораторије у ПВ углавном одабрале подподручја која, су, с једне стране најмање или мало захтјевна са становишта акредитације (серолошка испитивања), а с друге стране доносе већи профит, јер су захтјеви за овим анализама чешћи (регулатива, масовне претраге већег броја узорака и сл.). Поред овога, треба напоменути да је методологија рада и опрема једноставнија и примјењива за све методе из ових акредитованих подподручја, методе се веома брзо и једноставно уво-

де у рутински рад, испитивања веома кратко трају, брзо се долази до резултата, у питању су стандардне методе без захтјева за валидацијом и са веома поједностављеном верификацијом и мјерном несигурношћу, потрошни материјали, реагенси и дијагностички китови набављају се спремни за употребу без претходних припрема. Ово је и разумљиво, с обзиром на то да је основни разлог постојања лабораторија у ПВ стицање профита и, у складу с тим, слободан и циљан одабир подручја за која траже овлаштења за рад од над-

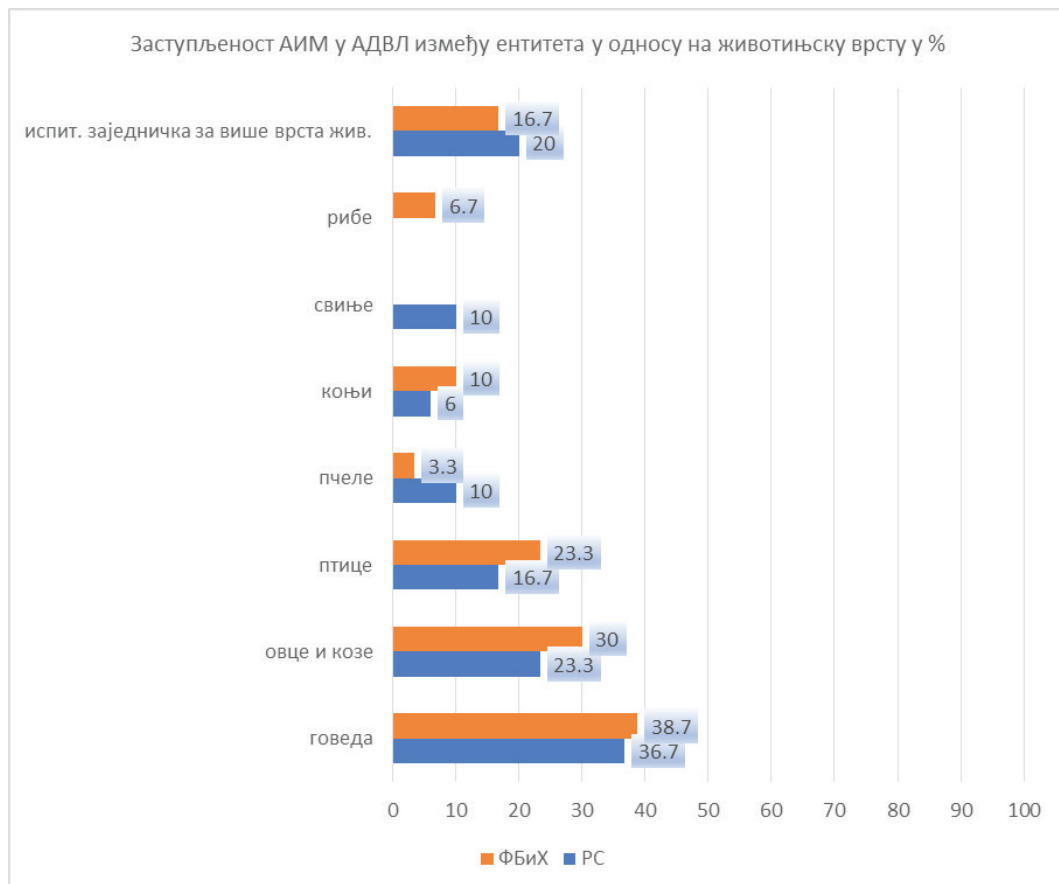
лежних органа, а потом и подручја која акредитују.

У испитним дијагностичким ветеринарским лабораторијама у БиХ укупно је акредитована 41 различита испитна метода. Од тога је у РС акредитовано 30 различитих испитних метода (73,20%), а у ФБиХ 31 метода (75,60%).

У Графиконима 5. и 6. приказана је заступљеност акредитованих испитних метода (АИМ) у АДВЛ у БиХ према животињској врсти.



Графикон 5. Заступљеност АИМ у АДВЛ у БиХ у односу на животињску врсту



Графикон 6. Заступљеност АИМ у АДВЛ између ентитета у односу на животињску врсту

У односу на укупан број АИМ, према врсти животиња, највише испитних метода акредитовано је за дијагностичку болести говеда (33,30%), затим оваца и коза (21,40%) и птица (16,70%), као и испитивања заједничка за више врста животиња (14,30%). Однос АИМ

у АДВЛ између ентитета према животињској врсти (говеда, овце и козе, птице, коњи, испитивања заједничка за више врста животиња) је приближан, за рибе је 2:1 у корист ФБиХ, а за свиње 1,5:1 у корист РС.

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата, изводе се следећи закључци:

1. У Босни и Херцеговини укупно је акредитовано 6 испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија, по три у РС (50%) и ФБиХ (50%).
2. Од укупног броја акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија, у Републици Српској је 33,30% у државном власништву, а 66,70% у приватном власништву, док је у Федерацији БиХ 100% у државном власништву, а на нивоу БиХ 66,70% у државном власништву, а 33,30% у приватном власништву. У Федерацији БиХ послови лабораторијског испитивања од јавног интереса за здравље животиња, а посљедично и људи, обављају се искључиво у акредитованим испитним дијагностичким ветеринарским лабораторијама у државном власништву, а Република Српска се, по овом питању, поред сопствених (у државном власништву), веома значајних лабораторијских капацитета, већински ослања на лабораторије у приватном власништву.
3. Испитне дијагностичке ветеринарске лабораторије у БиХ акредитовале су 7 различитих подручја акредитације у вези с дијагностиком болести животиња, од чега у Републици Српској 7 (100%), а у ФБиХ 6 подручја (85,70%). На нивоу БиХ лабораторије у државном власништву су доминантне у 85,70% подручја, а у приватном власништву су доминантне у 14,30% подручја. Од акредитованих подручја у Републици Српској, у 71,40% доминирају лабораторије у државном власништву, у 14,30% једнак је однос лабораторија у државном и приватном власништву, док у 14,30% доминирају лабораторије у приватном власништву, док у ФБиХ сва дијагностичка испитивања у ветеринарству обављају лабораторије у државном власништву (100%). Лабораторије у државном власништву акредитовале су испитне методе у 6 подручја (85,70%), а у приватном власништву у 2 подручја (28,60%). Све лабораторије акредитовале су серолошка испитивања. Лабораторије у приватном власништву одабрале су искључиво подручја која доносе већи профит нпр. (серолошка испитивања), јер су захтјеви за овим анализама чешћи, а методологија рада и опрема једноставнија. Вирусолошка, молекуларно дијагностичка, патолошка, паразитолошка и бактериолошка испитивања у БиХ обављају се искључиво у лабораторијама у државном власништву.
4. БиХ посједује значајне капацитете акредитованих испитних дијагностичких ветеринарских лабораторија, нарочито за серолошка (100%

акредитованих лабораторија), бактериолошка (66,70% акредитованих лабораторија) и паразитолошка испитивања (50% акредитованих лабораторија).

5. У испитним дијагностичким ветеринарским лабораторијама у БиХ укупно је акредитована 41 различита испитна метода. Од тога је у Републици Српској акредитовано 30 различитих испитних метода (73,20%), а у ФБиХ 31 метода (75,60%). У односу на укупан број акредитованих испитних метода, према врсти животиња, највише испитних метода акредитовано је за дијагностику болести говеда (33,30%), затим оваца и коза (21,40%) и птица (16,70%), као и испитивања заједничка за више врста животиња (14,30%).
6. Називи техничких подручја и подпруджја која се односе на испитивања из области ветеринарске медицине нису адекватно дефинисани од стране Института за акре-

дитовање БиХ (БАТА) и међусобно су супротстављени, односно немају стручно и научно упориште. БАТА нема дефинисане критеријуме нити хармонизован приступ приликом разврставања акредитованих испитних метода у одговарајућа техничка подручја и подпруджја из области ветеринарске медицине, а која су саставни дио додатака акредитацији акредитованих испитних лабораторија. Назив техничког подручја „Испитивања у ветеринарству“ потребно је промијенити у „Испитивања у ветеринарској медицини“, а подпруджја из области ветеринарске медицине требало би формирати према ширим областима и њиховим одређеним специфичностима, те предложимо следећа техничка подпруджја испитивања: паразитолошка, молекуларна, имунолошка, патолошко-хистолошка и биохемијска дијагностика, као и изолација и идентификација микроорганизама.

ЛИТЕРАТУРА

1. BAS EN ISO/IEC 17025. 2006. Општи захтјеви за компетентност испитних и калибрационих лабораторија. Институт за стандардизацију БиХ. 2. издање.
2. Dodatak акредитацији бр. ЛИ-41-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 04.01.2018.
3. Dodatak акредитацији бр. ЛИ-49-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 1 од 02.02.2018.
4. Dodatak акредитацији бр. ЛИ-50-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 22.02.2017.

5. Додатак акредитацији бр. ЛИ-24-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 06.06.2017.
6. Додатак акредитацији бр. ЛИ-43-01. 2018. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 12.01.2018.
7. Додатак акредитацији бр. ЛИ-61-01. 2017. Институт за акредитовање БиХ. Ревизија 0 од 03.04.2017.
8. Закон о акредитовању Босне и Херцеговине. 2001. Службени гласник БиХ. Број 19.
9. Закон о ветеринарству. 2000. Службене новине Федерације БиХ. Број 46.
10. Закон о ветеринарству у Босни и Херцеговини. 2002. Службени гласник БиХ. Број 34.
11. Закон о ветеринарству у Републици Српској. 2017. Службени гласник БиХ. Број 75.
12. Закон о оснивању Института за акредитовање Босне и Херцеговине. 2002. Службени гласник БиХ. Број 10.
13. Одлука о условима које морају испуњавати овлаштене ветеринарске дијагностичке лабораторије. 2004. Службени гласник БиХ. Број 25.
14. Одлука о измјенама и допунама одлуке о условима које морају испуњавати овлаштене ветеринарске дијагностичке лабораторије. 2009. Службени гласник БиХ. Број 43.
15. Систем акредитовања Босне и Херцеговине. 2017. Институт за акредитовање Босне и Херцеговине. ПД 05-01. Издање 31.
16. Техничка подручја и подподручја рада Института за акредитовање Босне и Херцеговине. ОД 07-40 од 11.12.2017.
17. http://www.bata.gov.ba/Akreditirana_tijela/Spisak-akreditiranih-tijela.pdf (02.02.2018.)

Рад примљен: 15.1.2018.

Рад прихваћен: 12.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801095G

UDK:619:[6:061.62(497.6)]"2017"

Original scientific paper

CAPACITY OF ACCREDITED DIAGNOSTIC TESTING VETERINARY LABORATORIES IN BOSNIA AND HERZEGOVINA IN 2017, FROM THE STANDPOINT OF DIAGNOSTIC TESTS IN VETERINARY MEDICINE, IN RELATION TO FIELDS OF ACCREDITATION

Bojan GOLIC^{1*}, Drago NEDIĆ¹, Slobodan DOJČINOVIĆ¹

¹ Dr. Sc. Bojan Golic Spec. Dr. Vet.; Prof. Dr. Sc. Drago Nedic Dr. Vet. Dr. Sci. Slobodan Dojcinovic Spec. Dr. Vet. Public Institution Veterinary Institute of the Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan“, Branka Radičevića 18, 78000 Banja Luka, Republic of Srpska, B&H

* Corresponding author: Dr. Sci. Bojan Golic Spec. Dr. Vet., bojan.golic@virs-vb.com

Abstract: Accreditation refers to the formal recognition that a conformity assessment body (laboratory) is competent to conduct conformity assessment activities according to internationally accepted rules. The accreditation of conformity assessment bodies in Bosnia and Herzegovina (B&H) is implemented by the Institute for Accreditation of B&H (BATA). Accreditation provides confidence in the laboratory test results.

Veterinary laboratories for diagnostic testing refer to laboratories for testing materials of animal origin.

The aim of the study is to determine the capacity of accredited diagnostic veterinary laboratories for diagnostic testing in B&H in relation to the field of examination or the scope of accreditation.

This enables a clear insight into the capacity of diagnostic veterinary laboratories to respond to animal health control requirements in order to protect animal and human health.

During 2017, six diagnostic veterinary laboratories were accredited in Bosnia and Herzegovina, three in Republika Srpska and three in the Federation of B&H.

Of the seven accredited fields of testing in B&H, laboratories in Reublika Srpska accredited all seven fields (100%), while laboratories in the Federation of B&H accredited six fields (85.70%). The veterinary laboratories for diagnostic testing in B&H accredited a total of 42 different test methods. In the RS 30 test methods were accredited (71.40%), while in the Federation of B&H there are 31 accredited test methods (81.60%).

When it comes to various fields of veterinary diagnostic tests, B&H has the capacity concerning accredited laboratories to respond to the requirements, capacities of particular significance are those for serological (100% accredited laboratories),

bacteriological (66.70% of accredited laboratories) and parasitological tests (50% of accredited laboratories). In relation to the total number of test methods regarding type of animals, the most test method are accredited for diagnosis of cattle diseases (in the RS 36.70%, in the FB&H 38.70%, and at the B&H level 33.30%), they are followed by the methods for diagnosis of sheep and goat diseases and bird diseases.

Key words: accreditation, testing laboratories, veterinary diagnostic.

INTRODUCTION

Accreditation of the conformity assessment body in Bosnia and Herzegovina (B&H) is carried out by the Institute for Accreditation of B&H (BATA) (12). BATA is responsible for developing, implementing and maintaining B&H Accreditation System (SAB&H), implementing the accreditation and supervision procedure of the conformity assessment body, representing B&H in European and international organizations for accreditation, organizing and implementing specialist staff training in the field of accreditation, and developing and establishing information system on assigned accreditations and on documents in the field of accreditation.

Accreditation is a document that demonstrates competence to perform certain tasks in the area of assessment of compliance (8). Accreditation implies a formal acknowledgment that some conformity assessment body is competent to carry out conformity assessment activities in accordance with internationally accepted rules. Conformity assessment is any activity through which it is directly or indirectly determined whether

the relevant requirements have been met. Conformity assessment body is a supplier-independent laboratory, certification body, inspection body or any other body involved in conformity assessment which can be a state authority or a legal or natural person. The accreditation procedure determines the competence of legal and natural persons, which can represent, in whole or in part, a conformity assessment body in relation to the requirements of B&H, European and international standards or documents of European and international accreditation organizations.

BATA sets out the criteria for approving and maintaining accreditation to be met by the Compliance Assessment Bodies (TOU), the process of accreditation and the financing of the accreditation system (15) Laboratory accreditation ensures confidence in the results of laboratory tests, and is carried out according to the standard BAS EN ISO / IEC 17025: 2006 (1). Within the SAB&H, test laboratories, calibration laboratories, medical laboratories, inspection bodies, product certification bodies, staff certification bodies and

bodies providing certification of the management system can be accredited.

Diagnostic veterinary laboratories refer to laboratories dealing with the testing of material originating from animals (9-11) These are the laboratories that carry out diagnostic tests of infectious diseases, the detection of potentially harmful residues in animals and products of animal origin, water and animal feed, food and animal feed hygiene, health and quality testing, and other tests (13) that is, bacteriological, serological, parasitological, chemical, biochemical, physical, pathological and radiological tests in the veterinary field, testing of the health safety of food of

animal origin and animal feed (11).

Diagnostic veterinary laboratories must accredit the methods they use in accordance with the standard BAS EN ISO / IEC 17025: 2006 (11, 14) Diagnostic testing in veterinary medicine in B&H is carried out by authorized laboratories in state (SO) and private ownership (PO) in both Entities, Republika Srpska (RS) and Federation of Bosnia and Herzegovina (FB&H), in accordance with the Veterinary Law (9-11) and other regulations. No veterinary diagnostic laboratory has been accredited in the Brcko District (BD).

OBJECTIVES AND TASKS OF TESTING

The aim of the study is to determine the capacities of the accredited veterinary diagnostic testing laboratories in B&H in relation to the field of testing from the standpoint of diagnostic testing in veterinary medicine. In this way, we would get a clear insight into the readiness of diagnostic testing

veterinary laboratories to respond to animal health control requirements with the aim of protecting animal and human health. Data on accredited areas and test methods related to food and animal feed control have not been taken into account in this study.

MATERIAL AND METHODS

Material

As a test material, Annex to Accreditation Certificate of Accredited Testing Laboratories in B&H in B&H was used, downloaded from the BATA website (57).

Laboratories on the RS territory:

State Ownership (SO)

1. PI Veterinary Institute of the

Republic of Srpska "Dr Vaso Butozan", Banja Luka (2)

II Private Ownership (PO)

1. Veterinary Institute "Teolab", Bijeljina (3)

2. Slaven d.o.o. Veterinary Institute, Banja Luka (4)

Laboratories on the FB&H territory:

State Ownership

1. Public institution “Veterinary Institute” Bihać, Bihać (5)

2. Veterinary Faculty of the University of Sarajevo, Sarajevo (6)

3. PI “Veterinary Institute of Tuzla Canton”, Tuzla (7)

The laboratories are displayed according to the registered name and headquarters of the legal entity, without mentioning their regional locations and organizational units that are accredited.

Methods

In our research and in the statistical analysis of the obtained results we used descriptive statistical parameters as basic statistical methods. These parameters enable the description of the obtained results and their interpretation. The results of the research are presented in a tabular and graphical form. Statistical analysis of the results was done in the Microsoft Office Excel statistical software

RESULTS AND DISCUSSION

In Bosnia and Herzegovina there are 6 accredited diagnostic testing veterinary laboratories (ADVL), three in the RS and three in the FB&H, while there are no ADVLs in the Brcko District (BD) (Table 1). Of these, one ADVL is an educational and scientific institution (6), three are public institutions (2, 5, 7), all four of them are in SO, while the remaining

two are privately-owned ADVLs (3, 4). When it comes to public institutions, one is specialist and scientific institution organized as a veterinary institute (2), while the other two, as well as two in PO, are organized as veterinary institutes (3-5, 7). The ratio of ADVLs between entities (RS to FB&H) is 1: 1.

Table 1. Accredited diagnostic testing laboratories in B&H

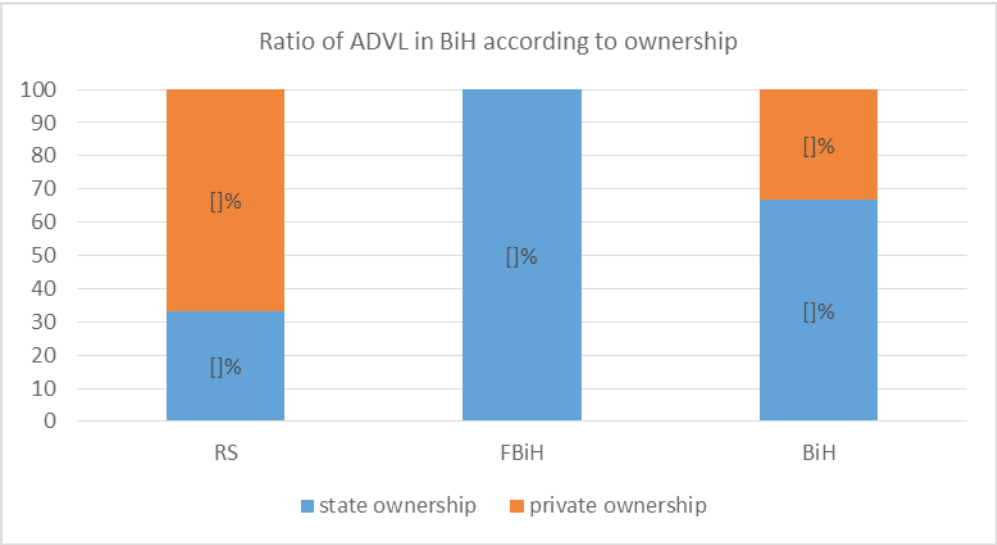
Location	Number of ADVL	%
RS	3	50
FB&H	3	50
BD	0	0
Total B&H	6	100

Table 2 and Graph 1 show the numerical and percentage ratio of

ADVLs in B&H according to ownership

Table 2. numerical ratio of ADVLs in B&H according to ownership

Location	Number	
	SO	PO
RS	1	2
FB&H	3	0
B&H	4	2

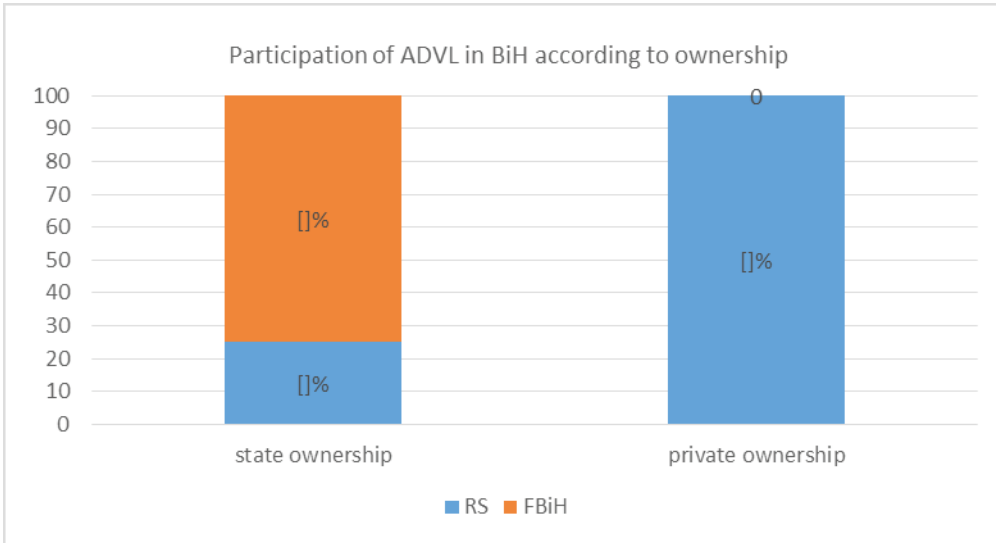


Graph 1. Ratio of ADVLs in B&H according to ownership

In RS, 33.30% of ADVLs are in SO, compared to 66.70% in PV (1: 2). This relationship is significantly different in FB&H, where 100% of ADVLs are in SO, while ADVLs in PO do not exist. At the B&H level, the ratio of state to private ownership, is 2: 1. Based on these data it can be concluded that in FB&H, laboratory tests of public interest for animal health, and consequently human health, are carried out exclusively in

ADVLs in SO. By contrast, the RS, apart from its own (state-owned laboratories) very important laboratory capacities, relies mostly on privately-owned laboratories.

Graph 2 shows the participation of ADVLs in B&H by entities in relation to ownership.

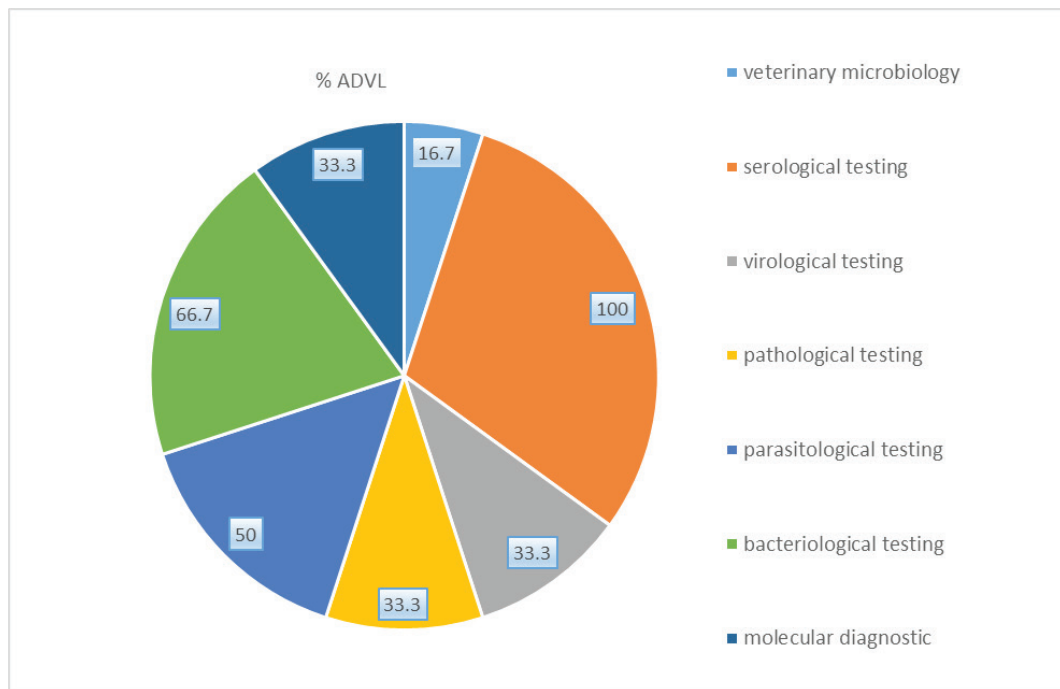


Graph 2. Participation of ADVLs in B&H entities according to ownership

Of the total number of ADVLs in SO in B&H, 25% of them are in the RS, and 75% of them are in the FB&H (1: 3). There are two privately-owned ADVLs in the RS, and none of them in the FB&H. One ADVL in SO in the RS accredited the methods in two locations (2), which practically means that they are two spatially separate laboratories. Taking

this into account, this significantly changes the ratio between ADVLs and it is RS: FB&H = 1: 1.5.

Graph 3. shows the representation of ADVLs in B&H in relation to the fields of accreditation.



Graph 3. Representation of ADVLs in B&H in relation to the fields of accreditation

When it comes to different fields of veterinary diagnostic testing, B&H has capacities in the form of ADVL to respond to these requirements, and especially significant capacities are those for serological (100% accredited laboratories), bacteriological (66.70% of accredited laboratories) and parasitological tests (50 % of accredited laboratories). When it comes to serological, virological, pathological and molecular diagnostic tests in veterinary healthcare, the ratio of laboratories in the RS to those in the FB&H is equal , 1: 1. However, virological, pathological and molecular diagnostic tests were accredited by one laboratory from both

entities (2, 6), while serological tests were accredited by all laboratories. In FB&H all laboratories also accredited bacteriological tests in veterinary healthcare, and the ratio to accredited laboratories in the RS is 3: 1. Bearing in mind the fact that one RS laboratory accredited these tests under another subfield of accreditation, veterinary microbiology (4), this ratio in real terms is 1.5: 1. The ratio of laboratories performing parasitological tests in veterinary healthcare in the RS and the FB&H is 1: 2. Observing the fields of accreditation, it is immediately noticed that all laboratories accredited serological testing in veterinary healthcare. This

is expected as these tests are the most profitable ones. In addition to this, they are the most common ones, they include a large number of tests (monitoring, milk carton, vaccine control), the methods are standard (OIE Manual), they have a short duration of testing (most often from a few hours to one or two days), the smallest investment is required (equipment, space, supplies, quality control), diagnostics are affordable, complete, allow large number of tests with “puliranje” technique. On the other hand, these tests, apart from a small number of methods, ie testing techniques and tested parameters, are orientational – “screening”. This means that in most cases, in order to obtain a final result, each positive result obtained by serological testing, must be confirmed or tested by confirmatory methods. Contrary to serological tests or screening methods, virological and molecular diagnostic tests with confirmatory methods are very little represented as accreditation fields in labs. This is also expected as these tests are very demanding in terms of resources. Requirements for space are extensive, highly trained and experienced staff is needed as well as sophisticated and very expensive laboratory equipment, expensive diagnostics (often not included in the kit, consisting of several components) and quality control is also demanding. Duration of the test procedure is not critical, as it usually takes, as with serological tests, from several hours to one, two, and sometimes more days. On the other hand, requests for these

testings are very rare. This actually means that virological and molecular diagnostic tests in the veterinary field are generally not profitable, since the gains from the performed laboratory tests can not cover the costs of investment in the necessary resources and the cost of maintaining laboratory capacity. These tests, therefore, in all laboratories which carry out these tests, exist at the expense of other fields of examination (mainly serological). Also, pathological testing in veterinary healthcare is very limited in both routine work and in the field of accreditation. The reason for this is that there are a very small number of requests for this type of testing, while these tests are not too demanding in terms of resources. Pathology tests in veterinary healthcare were accredited by one laboratory in the RS (2) and one in the FB&H (6), related tests were accredited in these laboratories, ie, diagnosis of the same disease, but using different test methods, TSE diagnostic method Priostrip and EIA.

With regard to these tests, and to other tests, we believe that the subfields of accreditation within the technical field “tests in veterinary healthcare” are not well defined, as different criteria have been used (a group of pathogens - bacteria and viruses, field of testing - pathology and parasitology; testing techniques depending on the type of sample - serology etc.). First of all, we consider that the term “veterinary healthcare” is inadequate because this term does not generally exist in

professional terminology when it comes to veterinary medicine. The term used in the professional and scientific public, relating to veterinary activity, is “veterinary medicine”, and we suggest that, in accordance with this, the name of this technical field should be changed to “tests in veterinary medicine”, which would include all tests in the field of veterinary medicine. Within the technical field of testing in veterinary healthcare, currently there are the following technical subfields: “serology”, “virology”, “histology”, “pathology”, “parasitology”, “bacteriology” and “diagnostic tests”, and within the technical field “molecular biology testing” there is another subfield entitled “molecular diagnostics in veterinary healthcare” (16). TSE Diagnostics is classified into “pathological testing in veterinary healthcare” subfield, primarily on the basis of the internal organization of an ADVL (2, 6) although these tests have little to do with these tests, taking into account the test techniques (Priostrip, EIA) which are based on immune reactions. In this case, neither the causative agent nor the testing technique was taken as a factor which define the technical subfield, but the fact that these tests in veterinary diagnostic laboratories were first implemented in pathological testing laboratories. It should also be noted that technical subfield “molecular diagnostics in veterinary healthcare” was not classified by BATA into the technical field “testing in veterinary healthcare”, but in the technical field

“molecular biology testing” (16). Test methods from this technical subfield were accredited by two ADVLs (2, 6) Also, when it comes to virological testing in veterinary medicine, there is an example when, on the basis of the tested parameter, ELISA and IHA tests were added (6), while in all other ADVLs, the ELISA test was classified into the technical subfield “serological tests in veterinary healthcare” (2-5, 7) There is a similar situation with testing of *Salmonella* spp parameter in faeces and swabs, with one ADVL from the RS accrediting this method in the subfield “bacteriological testing in veterinary healthcare” (2), and another ADVL accredited this same method in the subfield “veterinary microbiology” (3), while all three ADVLs in the FB&H accredited this method in the subfield “bacteriological tests in veterinary healthcare” (5-7). It should also be noted that the term veterinary microbiology as a field of accreditation is not clear, it is confusing and it is wrong in this context. The term veterinary microbiology in a narrow sense, slang, refers to bacteriological testing, while in a broader sense it includes bacteriology, virology and mycology, that is, it refers to a very wide field in veterinary medicine. Also, serology is covered by this wider meaning, but not as a real field of microbiology, but rather as a field of examination that involves testing techniques based on one type of sample, i.e. blood serum (serum serology), and which, directly or indirectly, demonstrate the presence of bacteria, viruses and

parasites. Regarding the term “serological testing in veterinary healthcare”, as well as “pathological”, we consider it to be formed on the basis of the internal organization of the diagnostic veterinary laboratories (2,6), rather than on the basis of a real professional analysis and evaluation. It is also not clear what is meant by subfield “diagnostic testing” (16) whether it is a clinical test involving work with patients, that is live animals, whether they are tests derived from a particular case, during the clinical examination of an animal with the aim of diagnosing or whether they are other laboratory tests that can not be classified in any of the subfields. We consider this term to be inappropriate because it is general, indefinite and may refer to all other testings or technical subfields in the field of “testing in veterinary healthcare”. Generally, term diagnosis means defining the cause of diseases and is based on anamnestic data, clinical examination and laboratory analysis. The subfield “pathological testing” is also questionable in terms of the name for two reasons. Firstly, it is not clear what this kind of tests should refer to, apart from necropsy of an animal. Secondly, diagnosis of prion is exclusively included in this subfield, irrelevant to the test method or test technique. If it is assumed that all causative agents of animal disease cause certain pathological changes, then, according to that logic, each examination could be classified as pathological. So in that case, in the above mentioned methods, it is not about

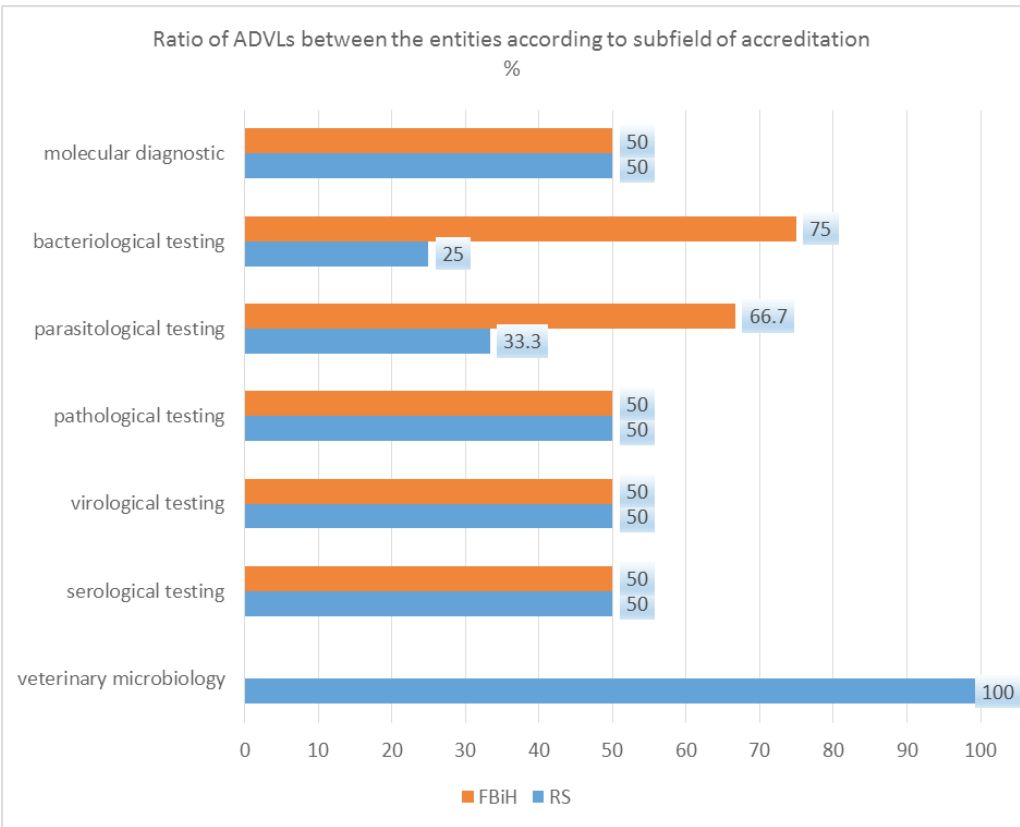
determining pathological changes, but about determining the presence of the causative agent, as in, for example, serological, parasitological, bacteriological and other tests. Pathological changes are determined exclusively by macroscopic (naked eye, autopsy) and microscopically (by preparing and inspecting histological and pathohistological sections). This calls into question future accreditation of certain types of tests (immunoenzymatic, immunological, mycological), as well as some tests which are already accredited (ELISA test, prion diseases, etc.). This, on the one hand, indicates the inadequacy of BATA documents in terms of technical fields and subfields of accreditation related to veterinary medicine tests, and, on the other hand, the inconsistency of technical experts, evaluators and leading BATA assessors, ie non-compliance with the same principle. Finally, BATA did not define the criteria by which accredited test methods would be classified into the appropriate technical fields and subfields. In general, we believe that BATA document that defines technical fields and subfields in veterinary medicine needs revision in terms of the adequacy of their names. In the first place, it is necessary to determine the approach, ie what will be the parameters for the classification of technical subfields, whether they will be based on the examined parameter, field of examination, matrix (sample type) or testing techniques. We think that the internal organization of ADVL should be

neglected in this regard, since all ADVLs are organized differently. Once a technical subfield is formed, double standards or approaches should be avoided when assigning test methods to it. It should be noted that bacteriological, mycological and virological tests are included in microbiological tests, and cannot simultaneously exist as subfields. Bacteriological, mycological, virological, prion and parasitological tests can be carried out individually with different test techniques (ELISA, AGID, Rose Bengal, PCR, Real Time PCR, EIA, ELFA, etc.). If the matrix is a factor that defines a technical subfields, the name of the serological testing should be carefully chosen because serological tests involve blood serum as a matrix and many of the test methods, in addition to blood serum use blood plasma, full blood, milk or milk serum. The ELISA method, as a typical representative of the “serological testing”, can directly (antigen) and indirectly (antibodies) prove bacterial, viral, prion and parasitic diseases, regardless of the matrix (sample types). These problems and examples were already pointed out on harmonization meetings in 2016, however, BATA explanation is that it currently does not have enough resources and that it is necessary to activate external associates for the purpose of comprehensive analysis and discussion on this issue. Since BATA has several technical experts in veterinary medicine who actively participate as technical experts and evaluators in the procedure of accreditation of diagnostic veterinary

laboratories, the attitude of BATA on this issue is not sustainable, as it already uses their expertise. All this points to the necessity for other ADVLs to take the initiative and take part in the adjustment and clear definition of technical fields and subfields in veterinary medicine, in order to harmonize them and come up with a uniform approach for their accreditation. Taking all this into account as well as knowledge in the field of veterinary medicine, we think that the technical subfields should be formed according to broader areas and their particular specificities, and we propose the following technical subfields of testing: parasitological, molecular, immunological, pathological-histological and biochemical diagnostics together with isolation and identification of microorganisms. The subfields of parasitological diagnostics would include test methods based solely on macroscopic and microscopic identification of parasites. The subfield of molecular diagnostics would include test methods, independent of PCR techniques, which demonstrate the presence of the genome of microorganisms and parasites. The subfield of immunological diagnostics would include all test methods based on immunological reactions, independently of the cause, directly or indirectly proven. The field of pathological and histological diagnostics would include, on the one hand, pathomorphological diagnostics, and, on the other hand, test methods based on the preparation and examination of histological and pathohistological sections. The subfield

of biochemical diagnosis would include test methods that determine biochemical parameters in tissues, body fluids, secretions and excreta.

Graph 4 shows the ratio of ADVLs between the entities according to subfields of accreditation.



Graph 4 . The ratio of ALHs in the entities according to the field of accreditation

Of seven accredited subfields of testing in B&H, laboratories in the RS accredited all seven (100%) and in the FB&H six subfields were accredited (85.70%). In the FB&H, tests in all accredited subfields are performed exclusively in state-owned laboratories.

In the RS, this is the case in virological, molecular diagnostics, parasitological and bacteriological tests. Laboratories in private ownership exclusively carry out tests in the field of veterinary microbiology, while in the subfield of serological testing the ratio 1: 2 is in

favor of privately owned laboratories. At the B&H level, virological, molecular diagnostics, pathological, parasitological and bacteriological tests are performed exclusively in laboratories in SO, in the

subfield of veterinary microbiology tests are performed exclusively in laboratories in PO, while in the subfield of serological testing, tests are performed mostly in laboratories in SO (2: 1).

Table 3 shows the percentage of ADVL in SO and PO in B&H according to the subfield of accreditation.

Field of accreditation	%					
	RS		FB&H		B&H	
	SO	PO	SO	PO	SO	PO
LI 3.6 Veterinary microbiology	0	100	0	0	0	100
LI 4.1 Serological testing	33,30	66,70	100	0	66,70	33,30
LI 4.2 Virological testing	100	0	100	0	100	0
LI 4.5 Pathological testing	100	0	100	0	100	0
LI 4.6 Parasitological testing	100	0	100	0	100	0
LI 4.7 Bacteriological testing	100	0	100	0	100	0
LI 19.2 Molecular diagnostis	100	0	100	0	100	0

At the B&H level, state-owned laboratories accredited 6 subfields (85.70%), while privately-owned laboratories accredited 2 subfields (28.60%). Of the total number of accredited subfields in the RS, state-owned laboratories dominate in 71.40% of subfields, the same ratio of laboratories is in 14.30% of subfields, while privately owned laboratories are dominant in 14.30% of subfields. Privately-owned laboratories dominate in the field of serological testing, which is expected, given the characteristics of these tests, profitability in the first place, which is also the main reason for the existence of private labs. In FB&H all diagnostic tests in veterinary medicine are performed by state-owned laboratories (100%).

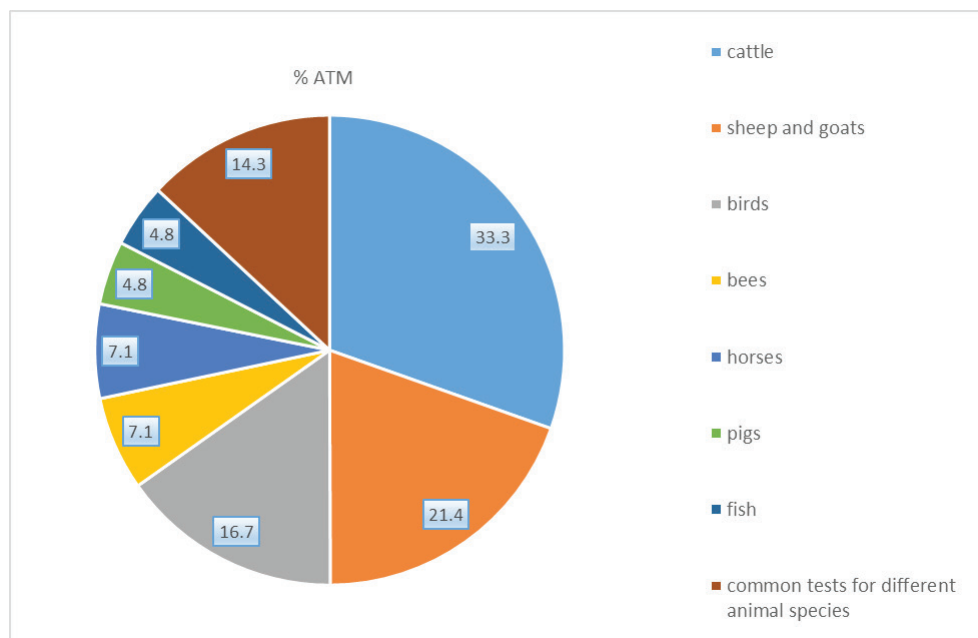
At the B&H level, laboratories in state ownership are dominant in 85.70% of the fields, while privately-owned laboratories are dominant in 14.30% of the fields. By analyzing accredited subfields of accreditation, it is noted that laboratories in state ownership accredited methods in most of the subfields, while laboratories in private ownership have mostly selected subfields that are the least or less demanding from the standpoint of accreditation (serological testing) and those which make a higher profit because the requirements for these analyzes are more frequent (regulations, tests of a larger number of samples, etc.). In addition to this it should be noted that the methodology of work and equipment is simpler and

applicable to all methods from these accredited subfields. The methods are very quickly and easily introduced into routine work, the tests take very little time, results are fast, standard methods without validation requests and with very simplified verification and measurement uncertainty. Also consumables, reagents and diagnostic kits are ready to be used without prior preparation. This is understandable since the basic reason for the existence of private laboratories is gaining profit and, accordingly a free and targeted selection of fields requiring work authorizations by the competent

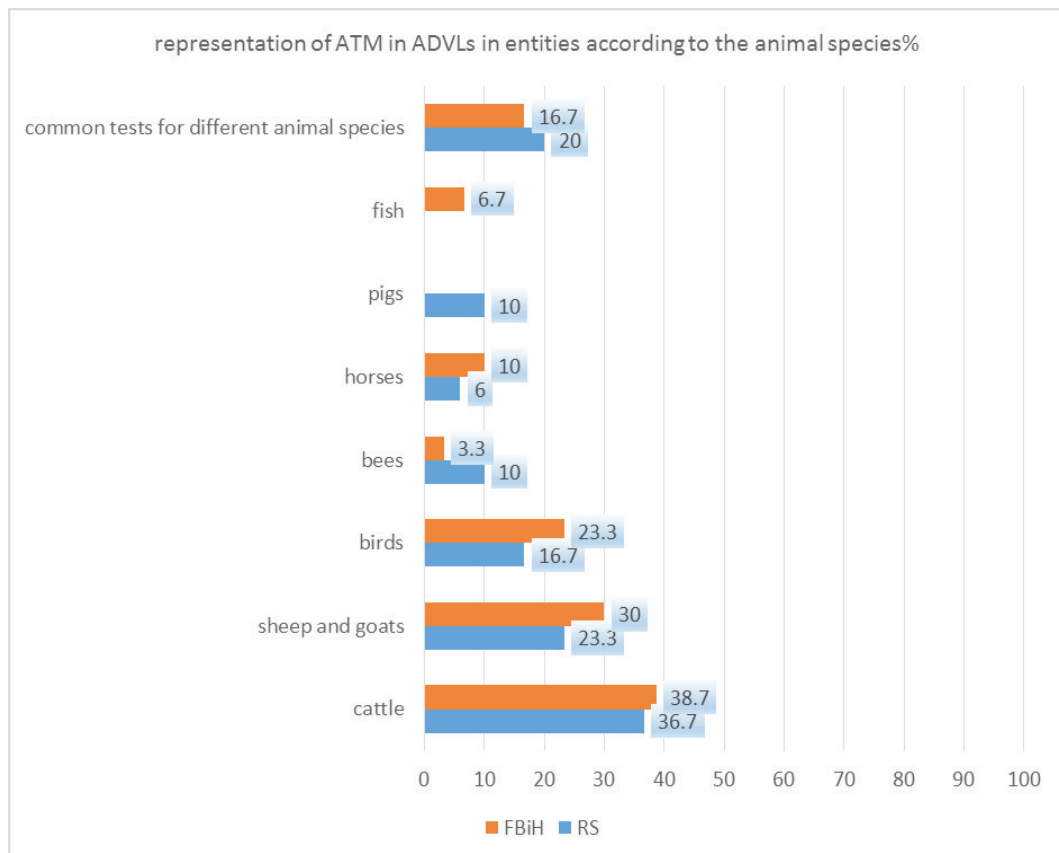
authorities, and then the accredited fields.

41 different test methods were accredited in the diagnostic testing veterinary laboratories in B&H. Out of this, in the RS, 30 (73.20%), different test methods were accredited in the RS, while 31 methods (75.60%) are accredited in the FB&H.

Graphs 5. and 6. show the representation of accredited test methods (ATM) in ADVLs in B&H according to the animal species.



Graph 5. Representation of accredited test methods in ADVLs in B&H according to the animal species



Graph 6. Representation of accredited test methods in ADVLs in the entities according to the animal species

Compared to the total number of AIMS, according to the type of animal, most of the test methods were accredited for the diagnosis of cattle diseases (33.30%), sheep and goats (21.40%) and birds (16.70%) as well as common tests for several species of animals (14.30%).

The ratio of AIM to ADVL between the entities according to the animal species (cattle, sheep and goats, birds, horses, common tests for several species of animals) is approximate, for fish it is 2: 1 in favor of the FB&H and for pigs it is 1,5: 1 in favor of the RS.

CONCLUSION

Based on the obtained results, the following conclusions are drawn:

1. In Bosnia and Herzegovina, 6 test diagnostic veterinary laboratories were accredited, three in the RS (50%) and three in the FB&H (50%).
2. Of the total number of accredited diagnostic testing veterinary laboratories in Republika Srpska, 33.30% of them are state-owned and 66.70% are privately- owned, in the Federation of B&H 100% of laboratories are state-owned, while at B&H level 66, 70% are state-owned, and 33.30% of them are privately owned ones. In the Federation of Bosnia and Herzegovina, the activities of laboratory testing of public interest for animal health and, consequently, human health, are carried out exclusively in accredited state-owned diagnostic veterinary laboratories, and Republika Srpska, in addition to its own (state-owned) laboratory capacity, relies mostly on privately- owned laboratories.
3. Diagnostic testing veterinary laboratories in Bosnia and Herzegovina accredited 7 different accreditation subfields related to the diagnosis of animal diseases, out of which 7 (100%) in Republika Srpska and 6 (85.70%) in the FB&H. At the B&H level, state-owned laboratories are dominant in 85.70% of the fields, and privately-owned ones dominate in 14.30% of the subfields. Of the total number of accredited subfields in the RS, state-owned laboratories dominate in 71.40% of the subfields, the same ratio of laboratories is in 14.30% of the subfields, while privately-owned laboratories are dominant in 14.30% of the subfields. In FB&H all diagnostic veterinary tests are conducted by state-owned laboratories (100%). State-owned laboratories accredited test methods in 6 subfields (85.70%) and privately- owned ones in 2 subfields (28.60%). All laboratories accredited serological tests. Privately-owned laboratories have chosen exclusively those subfields which bring higher profits, for example, (serological tests), because the requirements for these analyzes are more frequent, and the methodology of work and equipment is simpler. Virological tests, molecular diagnostics, pathological, parasitological and bacteriological tests in B&H are all performed exclusively in state-owned laboratories.
4. B&H has significant capacities of accredited test diagnostic veterinary laboratories, especially for serological (100% accredited laboratories), bacteriological (66.70% of accredited laboratories) and parasitological testing (50% of accredited laboratories).
5. In 41 diagnostic veterinary laboratories in B&H, 41 different

test methods were accredited. Of these, 30 different test methods were accredited in the Republika Srpska (73.20%), and 31 methods (75.60%) in the FB&H. Compared to the total number of accredited test methods, according to the type of animal, most of the test methods were accredited for the diagnosis of cattle diseases (33.30%), sheep and goats (21.40%) and birds (16.70%) as well common test for several species of animals (14.30%).

6. The names of the technical fields and subfields related to veterinary medicine are not adequately defined by the BATA (Accreditation Institute) (BATA) and are mutually opposing or have no professional and scientific base. BATA has no defined criteria nor a harmonized approach when classifying accredited test methods into appropriate technical fields and subfields in veterinary medicine, which are an integral part of Annex to Accreditation Certificate of accredited test laboratories.

The name of the technical field “testing in veterinary healthcare” should be changed to “testing in veterinary medicine”, and subfields in veterinary medicine should be formed according to the wider areas and their specificities, and we propose the following technical testing subfields: parasitological, molecular, immunological, pathohistological and biochemical diagnostics, as well as isolation and identification of microorganisms.

REFERENCES

1. BAS EN ISO/IEC 17025. 2006. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Institute for standardization of B&H. 2. izdanje.
2. Addendum to accreditation no. LI-41-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revizija 0 od 04.01.2018.
3. Addendum to accreditation no. LI-49-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revizija 1 od 02.02.2018.
4. Addendum to accreditation no. LI-50-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revizija 0 od 22.02.2017.
5. Addendum to accreditation no. LI-24-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revizija 0 od 06.06.2017.

6. Addendum to accreditation no. LI-43-01. 2018. Institute for accreditation of B&H. Revizija 0 od 12.01.2018.
7. Addendum to accreditation no. LI-61-01. 2017. Institute for accreditation of B&H. Revizija 0 od 03.04.2017.
8. Zakon o akreditovanju Bosne i Hercegovine. 2001. Službeni glasnik BiH. Broj 19.
9. Zakon o veterinarstvu. 2000. Službene novine Federacije BiH. Broj 46.
10. Zakon o veterinarstvu u Bosni i Hercegovini. 2002. Službeni glasnik BiH. Broj 34.
11. Zakon o veterinarstvu u Republici Srpskoj. 2017. Službeni glasnik BiH. Broj 75.
12. Zakon o osnivanju Instituta za akreditovanje Bosne i Hercegovine. 2002. Službeni glasnik BiH. Broj 10.
13. Odluka o uslovima koje moraju ispunjavati ovlaštene veterinarske dijagnostičke laboratorije. 2004. Službeni glasnik BiH. Broj 25.
14. Odluka o izmjenama i dopunama odluke o uslovima koje moraju ispunjavati ovlaštene veterinarske dijagnostičke laboratorije. 2009. Službeni glasnik BiH. Broj 43.
15. Sistem akreditovanja Bosne i Hercegovine. 2017. Institute for accreditation of B&H. PD 05-01. Izdanje 31.
16. Tehnička područja i podpodručja rada Instituta za akreditovanje Bosne i Hercegovine. OD 07-40 od 11.12.2017.
17. http://www.bata.gov.ba/Akreditirana_tijela/Spisak-akreditiranih-tijela.pdf (02.02.2018.)

Paper received: 15.1.2018.

Paper accepted: 12.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801132M

UDK: 639.1.02:004.35

Pregledni naučni rad

ICT SISTEMI ZA PRAĆENJE I ZAŠTITU DIVLJIH ŽIVOTINJA U NJIHOVOM PRIRODNOM OKRUŽENJU

Branko MARKOVIĆ^{1*}, Drago NEDIĆ², Savo MINIĆ³

1 Branko Marković, dipl.ing, „Prointer“ IT Solutions and Services, Vuka Karadžića 2, Banja Luka, Republika Srpska

2 Prof.dr Drago N. Nedić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd Srbija

3 Savo Minić, dipl. pravnik, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Trg Republike Srpske 1, Banja Luka, Republika Srpska

* korespondentni autor: Branko Marković: markovic.branko@prointer.ba

Kratak sadržaj: Rad se bavi sistemima za praćenje i zaštitu divljih životinja u njihovim prirodnim okruženjima, te primenom navedenih tehnologija i rešenja u zaštićenim rezervatima prirode. Rad razmatra razloge i mogućnosti primene navedenih tehničkih rešenja, posebno u smislu zaštite vrsta sa crvene liste ugroženih vrsta. U ovom smislu rad razmatra i tehnološka rešenja te mogućnosti njihove primene kroz IoT radni okvir, koncept Interneta životinja, te primene navedenih tehnologija kroz različite poslovne i istraživačke modele. Konačno, rad daje primere rešenja kako sa stanovišta neophodne infrastrukture (serveri, skladište, internet, ogrlice za životinje, stacionarne kamere i dronovi), tako i sa stanovišta obrade podataka i pravnog okvira za primenu navedenih rešenja.

Ključne reči: IoT, divlje životinje, ugrožene vrste

UVOD

Problem istraživanja, ali i popularizacija divljih životinja u njihovim prirodnim ekosistemima danas dobija na svojoj aktuelnosti iz više razloga. Osnovni razlog ovog pojačanog interesovanja za terensko istraživanje divljih životinja u njihovom prirodnom okruženju leži kako u mogućnostima daljinskog praćenja životinja ali i obrade dobijenih rezultata

i merenja koje otvaraju nove ICT tehnologije, tako i u činjenici da je usled industrijskog razvoja veliki broj prirodnih okruženja ovih životinja naprosto nestao kao posledica izgradnje civilne infrastrukture, te povećanih potreba civilizacije za životnim prostorom. Na taj način se smanjuje životni prostor divljih životinja pa samim tim i mogućnosti

ekosistema za obezbeđenje životnog prostora, hrane i drugih vitalnih potreba za određeni broj životinja. Ovi procesi su nezadrživi i direktno vode ka izumiranju pojedinih ugroženih vrsta, uglavnom predatora, koji se nalaze na vrhu lanca ishrane u nekom ekosistemu. Kako se smanjuje mogućnost da divlje životinje pronađu hranu, tako se povećava mogućnost susreta civilizacije i divljih životinja, odnosno, mogućnost da divlje životinje u očajanju hranu potraže izvan ograničenih i izolovanih ekosistema. Ovo dovodi do novog pritiska, kako od strane farmera, koji su ovakvim ponašanjem predatora direktno pogođeni, tako i na sam ekosistem, jer se u akcijama koje slede izlovom ograničava broj predatora na način da se on konstantno smanjuje, pa pomenuta vrsta uskoro dolazi na ivicu izumiranja. A kako je u prirodi sve povezano, ovo ima nesagledive posledice za ceo ekosistem koji se vremenom urušava i iz živog ekosistema u relativno kratkom vremenu pretvara u civilni park čije su osobine u skladu sa očekivanjima stanovništva i koji služi kao prostor za rekreaciju umesto kao prostor za život ugroženih vrsta, što mu je i bila prvobitna namena.

Mogućnost praćenja divljih životinja u njihovom okruženju pomaže da se navedene situacije preduprede i to je jedan od osnovnih komercijalnih razloga povećane zainteresovanosti za tehnike i tehnologije praćenja divljih životinja u njihovom prirodnom okruženju.

Drugi značajan faktor koji uzrokuje povećano interesovanje, a samim tim i

upotrebu tehnika za praćenje životinja ogleda se u delovanju grupa za zaštitu ugroženih vrsta koje se trude da u ograničenim i de facto nefunkcionalnim ekosistemima omoguće opstanak divljih životinja onako kako je to uredila priroda.

Treći značajni faktor svakako predstavljaju pokušaji biologa da detaljno prouče ponašanje divljih životinja tako da ih zahvaljujući novim neinvazivnim tehnologijama prate sa udaljene lokacije izbegavajući svaku moguću interakciju sa ekosistemom kao takvim, te na taj način izvrše adekvatno istraživanje ponašanja jedinki ali i grupa životinja, pri čemu se posebna pažnja posvećuje socijalnom i teritorijalnom ponašanju divljih životinja. Sa ovim u vezi treba naglasiti sledeće – ako želimo da upoznamo život i ponašanje divljih životinja do sada smo bili ograničeni na pojedinačna posmatranja i biološke ekspedicije, pri čemu bi biolog ulazio u neki ekosistem i posmatrao ga i proučavao trudeći se da ne narušava njegove tokove, u nadi da će otkriti obrasce ponašanja divljih životinja / posmatrane vrste i njenu interakciju da drugim elementima ili vrstama u okviru ekosistema. Ovakav način proučavanja životinja osim što je dugotrajan, neizvestan i krajnje naporan za istraživača ujedno je i zasnovan na ekonomski najpovoljnijem modelu, jer se celokupno istraživanje zasniva na očekivanju da će pojedinac biti dovoljno kadar da u prihvatljivom roku i pod prihvatljivoj ceni uoči, klasifikuje i sortira ključne događaje, te uoči i razume ponašanje grupe životinja koju posmatra

i iz navedenog prepozna obrasce, te izvuče zaključke i formalizuje stečeno znanje na način uspostavljanja naučnih zakonitosti koje su suštinski logički konzistentne, proverljive i dokazive. Treba naglasiti da je primarni zahtev u vezi sa razumevanjem ponašanja životinja vezan sa saznanjem gde se životinja nalazi i šta trenutno radi, jer ovo saznanje praćeno i evidentirano u dužem vremenskom periodu predstavlja obrazac ponašanja dotične životinje i osnova je za dalje proučavanje. Od navedenoga, između ostalog, zavise, odnosno, mogu se reversnom analizom iskristalisati, prirodne potrebe za hranom, vodom, kretanjem, odmorom, te druge fiziološke potrebe i navike.¹

Ovakva praksa prvenstveno biološkog izučavanja divljih životinja donekle je počela da se menja tokom 1960-tih, kada su se po prvi put u svrhu praćenja divljih životinja počele primenjivati metode daljinskog praćenja zasnovane na opremanju praćenih životinja sa adekvatnim aktivnim ili pasivnim tagovima (ogrlicama, prstenjem za označavanje...) i korišćenju radiogoniometrijskog pristupa za lokaciju i određivanje položaja i dnevnog hodograma životinje.

Četvrti faktor koji uzrokuje pojačano interesovanje za tehnologije praćenja divljih životinja ogleda se u činjenici da se zahvaljujući pomenutim tehnologijama i primeni drugih ICT

tehnologija na mnogo adekvatniji način mogu prezentovati kako pomenuti ekosistemi i pripadajuće životinje, što je zanimljivo kako sa komercijalnog stanovišta, tako i na edukativnom nivou. Ovaj trend će rasti kako se bude menjala demografska struktura publike kojoj su ovakvi sadržaji namenjeni, jer mlade generacije percepciju stvarnosti pre dobijaju kroz tehnologije socijalnih mreža koje su primenjive i na životinje u nekom ekosistemu, nego na direktnom susretu sa navedenim životinjama. Tako se pitanje osnivanja i očuvanja nacionalnih parkova svodi praktično na pitanje prepoznatljivosti njihove funkcije, odnosno, na pitanje načina kako se prezentuju razlozi njihovog postojanja i način upravljanja u njima, odnosno, način na koji se životinje u okviru njih tretiraju i koju vrstu i kakve popularnosti postižu na globalnom tržištu informacija.

Ovo praktično znači da je uslov opstanka pojedinih nacionalnih parkova ali i životinjskog sveta u njima, posebno kada su u pitanju veliki predatori sa vrha lanca ishrane, adekvatna prezentacija istih, kroz ICT tehnologije, prvenstveno socijalne mreže i profile, jer je to način na koji moderna populacija ne samo percipira stvarnost nego i odlučuje o potrebama i uslovima finansiranja istih.

Ostali društveni uticaji koji utiču na potrebu boljeg sagledavanja životinja

1 W. W. Cochran, D. W. Warner, J. R. Tester, V. B. Kuechle, Automatic Radio-Tracking System for Monitoring Animal Movements, Reprinted from BioScience, Vol. 15, No.2, 1965, pp 98-100, dostupno na mreži: https://www.researchgate.net/publication/247840577_Automatic_Radio_Tracking_System_for_Monitoring_Animal_Movements

i njihovog ponašanja u prirodnom okruženju

Delovanjem grupa za zaštitu životinja stvoren je pritisak na zoološke vrtove i korisnike životinja u izvođačke svrhe da se životinjama u ovoj vrsti zatočeništva obezbedi što prirodnije okruženje kako u smislu habitata tako i u smislu socijalnog okruženja i načina ishrane. Da bi se ovo obezbedilo, mnogi zoocentri sada stvaraju simulirane prirodne habitate i posmatraju socijalne sposobnosti i ponašanje čak i najuobičajenijih životinja.² Upravo ova društvena inicijativa, koja je pokušavala da zaštiti divlje životinje u zoo vrtovima, dovela je do povećane potrebe da se te iste vrste životinja proučavaju u njihovim prirodnim okruženjima kako bi se odgovorilo zahtevima u smislu čuvanja i privređivanja životinjama koje pred njih postavljaju grupe za zaštitu prava životinja.

Problem lova, izlova i upravljanja lovnim resursima u predelima koji nisu pod posebnim režimom zaštite (šume, planinsko gorje) ogleda se u nedovoljno jasnoj metodologiji za određivanje izlovnih kvota, koje često ne korespondiraju ni sa jednom priznatom metodologijom već sa trenutnim potrebama civilnog društva naslonjenog na date ekosisteme. Naime, u prostorima van posebno zaštićenih prirodnih rezervata problem opstanka velikih predatora svodi se na upravljanje

lokalnim interesima, kako interesima lovačkih udruženja, tako i interesima lokalnih farmera. Jedan od ozbiljnih problema, naročito kada su u pitanju predatori sa vrha lanca ishrane koji su i najugroženiji, jer ponajpre ostanu bez dovoljne količine hrane ogleda se u činjenici da se oni, što opet na našim prostorima znači vukovi i medvedi, zapute da hranu traže van šumskih gazdinstava gde su još uvek neprimetni pa samim tim i donekle zaštićeni od lovaca. Naime, ako se desi da neki vuk napadne neku domaću životinju, u prvom redu stoku na slobodnoj ispaši, kao mera prevazilaženja problema predmet izlova postaće ne samo on, već verovatno i mnogi drugi članovi čopora, jer se on automatski proglašava za štetočinu, pa se prema njemu, ali i pripadnicima iste vrste, sprovode najrestriktivnije mere u smislu odstrela. Sistemi za kontinuirano daljinsko praćenje predatora predstavljaju moguće rešenje ovog problema, jer se na taj način stvara konstantni uvid u ponašanje životinja i njihovu prisutnost na određenoj teritoriji, pa je moguće stvoriti i preduslove za njihovo oslobađanje od stigme krivice za napade na stoku. U ovom slučaju može se reći da postoji i jak društveni aspekt upotrebe tehnologija za praćenje životinja, jer oslobađanje životinja sa socijalne tačke gledišta takođe znači oslobađanje ljudi. Više autora naglašava činjenicu da problemi vezani za ekološku

2 ERIC SCHMITT, 'Natural' Habitats Offer Insights Into Social Behavior of Animals, The New York Times, January 26, 1988, dostupno na mreži: <http://www.nytimes.com/1988/01/26/science/natural-habitats-offer-insights-into-social-behavior-of-animals.html>

krizu koja je postala globalna potiču od antropomornog gledišta i ličnih interesa i da je, da bi očuvali postojeće zaštićene ekosisteme, neophodno da ovaj pogled na svet promenimo.³

Usled neprestanog civilizacijskog napretka, dolazi do prenamene pojedinog zemljišta, između ostalog i onog koje je ranije bilo deo posebnog ekosistema, koji se usled prekida prirodnih ciklusa i procesa nasilne urbanizacije ubrzano osiromašuje do nivoa njegovog prelaska u potpuno nenaseljeno zemljište, pa poseban značaj danas poprima desertifikacija zemljišta. Prema mišljenju i radovima biologa Alana Sejvorija, ovaj proces se može sprečiti ako se zemljište upotrebljava tako da se oponašaju prirodne fluktuacije ekosistema. Uticaj predatora prema njemu je da teraju životinje kojima se hrane sezonskim biljem da se kreću, te sami time ne ostvaruju lokalni uticaj u smislu njihovog zagađivanja sredine preko granica samoodrživosti nekog ekosistema. Na taj način predatori u stvari omogućavaju opstanak kompletnog ekosistema sa svim vrstama u njemu. Odstranjivanje predatora iz ekosistema neće spasiti

ni jednu zaštićenu vrstu, a dugoročno će dovesti do urušavanja tog ekosistema u dezertifikacijsko zemljište.⁴ Upravo gledano sa ovog stanovišta, postaje jasno koliko je važno imati mogućnost realnog i redovnog uvida u kretanje i ponašanje divljih životinja, posebno predatora, jer se mimikovanjem prirodnih ciklusa može, u kraćem vremenskom periodu, povratiti deo dezertifikovanog zemljišta u samoodržive ekosisteme.

Mnoge zemlje danas su suočene sa potrebom da usklade i orkestriraju javno zdravlje, zdravlje stoke i zdravlje divljih životinja na slobodi. Pojave kao što su bolesti koje se prošire iz prirodnih staništa ka urbanim sredinama više nisu tako retke, setimo se samo ptičijeg gripa, hantavirusa, te virusa Zapadnog Nila. Suočene sa potrebom da zaštite prirodne ekosisteme, ali i sopstveno stanovništvo, mnoge zemlje poput Kanade osnovale su posebne agencije koje će pratiti mortalitet divljih životinja, tražiti njegove uzroke, predviđati i pokušati da umanje rizike koje on izaziva po javno zdravlje.⁵ Ovakve široko rasprostranjene mreže omogućavaju da zdravstvene organizacije rade preventivno pre nego reaktivno, te

3 Jessica Ellis, Mel Hall, Phil Ong, Leif Wege, Natalie Paterson, Chelsea Smith, Animal Testing at Dalhousie University: A brief insight into social, economic, and environmental effects of nonhuman animal testing, Dalhousie University, 2010, dostupno na mreži: <https://www.dal.ca/content/dam/dalhousie/pdf/science/environmental-science-program/ENVS%203502%20projects/2010/AnimalTesting.pdf>

4 Allan Savory, How to green the world's deserts and reverse climate change | Allan Savory, Published on Mar 4, 2013, video, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=vpThi7O66pI>

5 Tyler Stitt, Julie Mountifield, Craig Stephen, Opportunities and obstacles to collecting wildlife disease data for public health purposes: Results of a pilot study on Vancouver Island, British Columbia, Canadian Veterinary Journal, 2007 Jan; 48(1): 83–90., dostupno na mreži: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716737/#>

umnogome izbegnu i umanje negativne efekte bioloških hazarda koji nam dolaze od divljih životinja, a osnovni preduslov za operativni rad ovakvih agencija je široko rasprostranjena mreža senzora, kako u ekosistemima tako i na samim životinjama, jer tek ovako prikupljani podaci imaju dovoljnu gustinu, a samim tim i pouzdanost da se možemo osloniti na njihovu tačnost te izbeći pretpostavke sumnjive tačnosti koje danas dominiraju ovim poljem usled nedovoljno podataka, odnosno, zbog skupljanja podataka tek kad je neka pojava toliko uzela maha da je postala prepoznatljiva. Tehnologije za daljinsko praćenje životinja te njihovih navika u ovome predstavljaju ključnu tehnologiju koja obezbeđuje prikupljanje neophodnih podataka kako u realnom vremenu tako i u smislu istorijskog loga, pa ih je moguće podvrgnuti tehnikama *Big Data* analitike koja obezbeđuje zadovoljavajući nivo tačnosti predviđanja, ali se mogu koristiti i kao alati za pretragu unazad, ka izvoru zaraze odnosno pronalasku biološkog hazarda i okidača koji je doveo do pojave navedenih bolesti.

Proces zaštite i pravne mere za obezbeđivanje pravnih, organizacionih i operativnih aktivnosti na zaštiti ugroženih vrsta

Proces zaštite neke ugrožene vrste počinje njenom indentifikacijom i evidentiranjem, te procenom

ugroženosti, u svrhu izrade Crvene liste ugroženih vrsta koje predstavljaju prikaz stepena ugroženosti pojedinih vrsta na određenom prostoru. Ove liste su dinamičke prirode i kontinuirano se dopunjuju, odnosno, menjaju u skladu sa promenama na terenu.

Ovde je posebno važno napomenuti da stepen ugroženosti raste sa smanjenjem prirodne raširenosti vrste, odnosno raste u slučaju endemičnosti vrste. Najveći broj ugroženih vrsta je endemičan, odnosno usko lokalizovan u rasprostranjenju i ekološki stenovalentan, pa se nestajane (izumiranje) takvih vrsta ne može nadoknaditi iz nekog drugog „rezervnog“ genetičkog izvora, kao što je slučaj sa regionalno iščezlim vrstama koje se mogu (re)introdukovati iz sačuvanih populacija negde drugde.⁶

Nažalost, u Bosni i Hercegovini još uvijek ne postoje Crvene liste na nivou države. U RS je 2012. godine donesena lista zaštićenih vrsta čiji je naziv „Crvena lista zaštićenih vrsta flore i faune Republike Srpske“ („Službeni glasnik RS“ br. 124/12) u kojoj nisu date kategorije ugroženosti pojedinih vrsta. S druge strane, u FBiH je 2014. godine usvojena „Crvena lista divljih vrsta i podvrsta biljaka, životinja i gljiva“ („Službene novine Federacije BiH“, broj: 7/14) u kojoj je uz svaku vrstu koja se navodi u dokumentu data i kategorija ugroženosti.⁷

6 Tatjana Ratknic, 2017: UGROŽENE BILJNE VRSTE U SRBIJI, Ekološko-šumarski centar „Sylva“, dostupno na mreži: <http://sylva.rs/doc/Ugrozene%20biljne%20vrste%20u%20Srbiji.pdf>

7 Zaštita ugroženih vrsta u BiH, blog biolog.ba, 24.05.2017, dostupno na mreži: <http://biolog.ba/58-zastita-ugrozenih-vrsta-u-bih.html>

Iako su Crvene liste dokumenti koji bi se trebalo da se zasnivaju na istoj, međunarodno prihvaćenoj metodologiji, u realnosti, u BiH postoje dva potpuno različita dokumenta za koje je potpuno nejasno na osnovu kojih parametara je vršen izbor i kategorizacija vrsta.

Upravo ovde leži i problem indentifikacije realne ugroženosti pojedinih, prvenstveno životinjskih vrsta, sa specifično velikim radijusom dnevnih i sezonskih migracija. Ovo dolazi i stoga što navedene životinje često prelaze iz jednog u drugi pravni entitet, pa se procena ugroženosti vrši na osnovu „duple evidencije“ a nije adekvatna situaciji na terenu.

Sa druge strane, tehničke, organizacione mere zaštite i operativne aktivnosti moraju imati svoje obrazloženje i pravno utemeljenje koje bi trebalo da se zasniva na realnoj proceni ugroženosti ili uvidu u stanje populacije na terenu. Za ovo je potrebno obezbediti tehnički sistem kojim se omogućuje stalni uvid ili barem dovoljno frekventni uvid u stanje populacije, što je jedino moguće izgradnjom sistema za daljinsko praćenje životinja, te organizovanjem usluga rendžerske i tehničke zaštite ugroženih vrsta kroz neki potvrđeni pravni okvir.

Objedinjene na jednom mestu, Crvene liste za određeni geografski region predstavljaju takozvane Crvene knjige – naučno-stručne publikacije u kojima su navedene sve vrste organizama koje podležu zaštiti prema međunarodnoj klasifikaciji stepena ugroženosti:

- vrste pred istrebljenjem;
- vrste u opasnosti od istrebljenja;
- ranjive (osetljive vrste);
- retke vrste.

Retke i ugrožene vrste su zaštićene zakonom tako da se njihova staništa proglašavaju za stroge rezervate prirode u kojima vlada poseban režim i u kojima je aktivnost ljudi svedena na najmanju meru. Odvajanje ugroženih vrsta i obezbeđivanje staništa u okviru nekog zatvorenog ekosistema predstavlja najefikasniji način zaštite ugroženih vrsta. Ipak, ovakim zakonskim rešenjima stvara se i određena ekskluzivnost, te se daju posebna prava kako upravama parkova tako i posebnim organizacijama koje se bave zaštitama vrsta. Iako je namera zakonodavca da na ovaj način omogući i potpomogne zaštitu neke ugrožene vrste, činjenice na terenu pokazuju da je davanje širokih a posebno ekskluzivnih ovlašćenja često i izvor korupcije te osnov za obavljanje mnogih nezakonitih pa čak i kriminalnih aktivnosti. Tako nije neuobičajena praksa da se u okviru pojedinih rezervata prirode uprave parkova ponašaju kao monopolisti nad prirodnim resursom koji im predstavlja kako izvor egzistencije, tako i izvor za sticanje materijalne i finansijske dobiti trgovinom i/ili krivolovom vezanim za ugrožene vrste koje bi upravo uprave parkova trebalo najviše da štite. Mere tehničke zaštite, a posebno infrastruktura za daljinski nadzor nad ugroženim vrstama biljaka i životinja omogućava da mere zaštite i

operativnog postupanja u okviru zaštite ugroženih vrsta i rezervata prirode postanu transparentne i javne, te da se na osnovu njih uvede adekvatna kontrola zaštite ugroženih vrsta ali i habitata kao takvog. Činjenica da se pojedine uprave parkova ovom protive samo je posredni indikator koji jasno nagoveštava da se

poslovanje dotičnih uprava ne obavlja na adekvatan i zakonom propisan način. Sa druge strane, navedena infrastruktura omogućava i široku popularizaciju te podizanje svesti šire društvene zajednice u vezi sa potrebom očuvanja prirodne sredine i ugroženih vrsta u njoj.

KONZERVACIJA I UPRAVLJANJE NACIONALNIM PARKOVIMA

Da bi se zaštitile ugrožene vrste i njihova staništa, danas se primenjuju institucionalne ali i neinstitucionalne mere. Institucionalne mere uglavnom su vezane za aktivnosti država i vlada dok neinstitucionalne mere predstavljaju sve oblike privatnih inicijativa na očuvanju živog sveta i biodiverziteta. Ujedinjene nacije kao krovna organizacija koja se između ostalog bavi i krovnim organizovanjem nacionalnih i međunarodnih inicijativa za očuvanje prirode dala je niz preporuka i definicija, kao i standarda iz oblasti očuvanja prirode i zaštite ugroženih vrsta. Akt o ugroženim vrstama prepoznaje da ribe, divlje životinje i biljke za ljude imaju estetske, školske, obrazovne, istorijske, naučne i rekreacione vrednosti i da se prema ovim vrednostima, koje su zajedničke svim ljudima, čovek mora odnositi na način da štiti pomenute vrednosti.⁸

U prethodnom periodu učinjeni su institucionalni koraci za zaštitu posebnih rezervata prirode u okviru kojih je jedan broj zaštićenih životinjskih

vrsta dobio zaštićena staništa na način da se deo teritorije na kojima obitava navedena vrsta dobio status nacionalnog parka ili drugog rezervata prirode. Pojačani zahtevi za proširenje civilne infrastrukture ipak su doводили do pojačanog pritiska na ove rezervate, pa su primetne i pojave indirektnog slabljenja, odnosno, indirektnog negativnog uticaja na zaštićena područja. Ovi indirektni uticaji najčešće su posledica promene mikroklimе do koje dolazi usled promene geofizičkih osobina susednog zemljišta – izgradnja brana i veštačkih jezera može da uzrokuje promenu obrazaca duvanja vetra, promeni lokalnu vlažnost, i kapilarnu irigaciju, što sve direktno utiče na sposobnost nekog ekosistema u smislu produkcije hrane za biljojede, a samim tim i predatore koji se njima hrane. Sličan uticaj imaju i izgradnja termoelektrana ili velikih industrijskih kapaciteta, prolazak auto-puta ili neke druge globalne saobraćajnice u neposrednoj blizini zaštićenog rezervata. Da bi se ovo izbeglo postoji zakonska obaveza izrade studije uticaja. Studija uticaja na životnu okolinu često je

8 Randall Abate, What Can Animal Law Learn from Environmental Law?, Environmental Law Institute, West Academic, 2015 pp 160, ISBN 978-1-58576-176-0

pogrešna u smislu davanja dugoročnih procena kako će izgradnja nekog infrastrukturnog objekta (civilnog, komunalnog ili energetskeg sistema) delovati na životnu sredinu.

Takođe, treba naglasiti i da se usled globalnih klimatskih promena sposobnost ekosistema dodatno smanjuje u smislu produkcije neophodne količine hrane za određeni broj životinja, što dovodi do smanjenja broja jedinki i do njihovog de fakto izumiranja, ako se čovek, u smislu direktne intervencije, ne umeša u kritičnim periodima. Pod ovim se prvenstveno podrazumeva opcija hranjenja izgladnelih životinja putem organizovanih hranilišta bez direktnog susreta između rendžerske službe i divljih životinja. Da bi ovakav vid privremenog hranjenja bio uspešan, on mora korespondirati sa navikama životinja, odnosno, sa njihovim prirodnim migracijama i dnevnim potrebama, za šta je takođe neophodno da rendžerska služba, a posebno veterinari i biolozi imaju na raspolaganju adekvatne i aktuelne informacije koje pruža sistem za daljinsko praćenje životinja. U smislu navedenog, važno je napomenuti da konzervacija i upravljanje nacionalnim parkovima ne mogu više biti izolovani pokušaji uprave parkova i njihovih timova za zaštitu, već se zaštita, u smislu monitoringa uslova, mora proširiti i van

graničnih oblasti zaštićenih područja, te rad na projektima zaštite izvoditi u široj zajednici.⁹

U smislu zaštite prirode i konzervacije pojedinih izolovanih ekosistema, kakvi su nacionalni parkovi, moderne ICT tehnologije pružaju višestruke prednosti u odnosu na klasične metode i tehnike upravljanja zaštićenim područjima. ICT tehnologije pružaju sledeće prednosti¹⁰:

- Omogućavaju da se odredi kolika je tačno populacija koja naseljava habitat unutar zaštićenog područja
- Omogućavaju jasan uvid kolika je teritorija po pojedinim jedinkama i vrstama (teritorija jedne životinje, teritorija krda ili čopora grabljivaca)
- Ima li viška životinja koje nemaju svoju teritoriju i koje se mogu premestiti u neko drugo zaštićeno područje
- Omogućavaju uvid u distribucione šablone pojedinih vrsta na datom području, po prostoru i vremenu
- Ove tehnologije omogućavaju praćenje i očuvanje biodiverziteta

Pružaju brze feedback podatke

Najveći problem prilikom primene novih ICT tehnologija na zaštićene rezervate prirode predstavlja pitanje mrežne infrastrukture. Naime, većina

9 Fish and Wildlife Service I&M: Connecting Science-driven Monitoring to Management, National Wildlife Refuge System Inventory and Monitoring (I&M) initiative, Published on 4 Aug 2012, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=XutmC7QRGUM>

10 Priya Joshi, Wildlife conservation through innovative technology: Priya Joshi at TEDxKathmandu, TEDx Talks, Published on 10 Jan 2013, video, 24.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=bgM5kHZYrO8>

ICT tehnologija primenjuje se na način da su procesi prikupljanja podataka odvojeni od procesa obrade informacija i dobijanja vrednosti, kako naučnih, tako operativnih u smislu upravljanja i njihove popularizacije. Za potrebe prvih neophodno je u zaštićene rezervate prirode obezbediti mrežu i/ili internet, dok se ostali obrađuju u zasebnim data centrima i/ili u okviru nekog cloud rešenja. Iz navedenog jasno proizilazi da je najskuplji i tehnički najzahtevniji deo izgradnje neophodne infrastrukture vezan za uvođenje interneta na celokupnom prostoru zaštićenog područja. U područjima kod koji je stepen zaštite niži, ovo se ostvaruje primenom standardne wi-fi tehnologije uz minimalno privremeno narušavanje prirodnog staništa tokom postavljanja kablovske infrastrukture kojom se povezuju krajnji nodovi i bazne stanice. U slučaju uvođenja interneta u oblasti sa višim nivoom zaštite ovo se izvodi isključivom primenom wi-fi tehnologija pri čemu se bazne stanice postavljaju na obodu zaštićenog područja. U slučaju prašume, usled velike gustine vegetacije, navedena rešenja ne bi bila dovoljno efikasna na celokupnom zaštićenom teritoriju prašume, pa je potrebno i pokrivanje jednog dela prašume sa pristupnim tačkama kojima se obraćaju mrežni uređaji instalisani u ogrlicama životinja koje se prate iz vazduha (AP

montirani na dronove, balone ili male vazdušne brodove). Da ideja o instalisanju i korišćenju wi-fi tehnologije dobija svoje pristalice najbolje govori podatak da Kanada planira da u svoje nacionalne parkove uvede wi-fi i time omogući brži i lakši prenos podataka od dosadašnjeg koji se zasnivao na tehnologijama mobilne telefonije.¹¹ Ovakvi planovi i izvedena rešenja jasno govore o tome da se teži smanjivanju operativnih troškova nacionalnih parkova uz istovremeno poboljšanje i podizanje kvaliteta oglašavanja, te pružanja usluga prisustva na daljinu, kako ljubiteljima životinja tako i u naučne i obrazovne svrhe. Važno je naglasiti da bez izgradnje odgovarajuće mrežne wi-fi infrastrukture praktično nema mogućnosti primene modernih ICT tehnologija u oblasti praćenja i upravljanja prirodnim rezervatima i zaštite ugroženih vrsta. Ovo dolazi i stoga što je za adekvatno prikupljanje podataka neophodno imati mreže čija propusna moć odgovara količini saobraćaja koji se generiše, a poznato je da IoT uređaji, posebno senzori od kojih se zahteva emulacija kontinuiranog praćenja stanja, generišu velike količine podataka koje treba transportovati do centralnog servera na kojem će se raditi obrada podataka i generisati neophodne informacije.

11 Wi-Fi in the woods: Canada plans to install web hotspots across its national parks and historic sites, Daily Mail, 29 April 2014, On Line izdanje, 24.12.2016, dostupno na mreži: <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2616007/Wi-Fi-woods-Canada-plans-install-web-hotspots-national-parks-historic-sites.html#ixzz4TmNxjQeH>

IOT FRAMEWORK

Jedan od značajnih prednosti sistema praćenja divljih životinja u njihovim prirodnim habitatima pomoću IoT tehnologija ogleda se u većoj transparentnosti procesa u ekosistemu, pa možemo naučiti kako ekosistem funkcioniše, a ne se samo usresrediti na spasavanje jedne ugrožene vrste, jer takav ogoljen pristup zaštite ugroženih vrsta često ne daje rezultate. Ako pretvorimo praćenu životinju u neku vrstu digitalnog proizvoda, ona će kreirati na milione specifičnih merenja,¹² odnosno, podataka neophodnih da stvorimo dublji i bolji uvid u njen život ali i ponašanje, običaje, navike i ukupne biološke potrebe cele vrste. IoT i BigData rešenja omogućavaju da se prikupi i obradi veliki broj podataka, te da se na osnovu toga generišu novi uvidi. Koliko je ova tehnologija napredna, u smislu omogućavanja novih uvida, najbolje govori podatak da se u stručnoj literaturi danas sve češće govori o Biotelemetrijskoj revoluciji. Razlozi usled kojih se današnje stanje razvoja može opisati kao Biotelemetrijska revolucija su:

- Uređaji su sve manji po dimenzijama i masi, na tržištu postoji veliki broj malih integrisanih GPS uređaja
- Zahvaljujući Cloud tehnologijama omogućeno je prikupljanje parcijalnih data strimova i njihovo

kombinovanje u cilju dobijanja što pouzdanijih informacija bilo da se do njih dolazi u realnom vremenu ili odloženo

Treba primetiti da IoT i Big Data omogućavaju ne samo nove naučne uvide već i jedan novi oblik upravljanja resursima koji se može nazvati upravljanje prema realnim informacijama u realnom vremenu, ili posredno direktivno upravljanje na bazi uvida u realnost. Ovakvo upravljanje predstavlja kvantitativni i kvalitativni skok sa dosadašnjeg načina upravljanja i gospodarenja prirodnim resursima. Takođe, IoT radni okvir predstavlja mogućnost da se ideje pretvore u digitalne proizvode, sa tim u vezi postavlja se pitanje može li se upotrebom ovog metoda prašuma pretvoriti u digitalni proizvod i taj proizvod učiniti samoodrživim ekonomskim modelom koji bi štitio prašumu. Jedna od ideja koja se kristališe jeste i iznalaženje novih poslovnih modela kako bi se olakšalo poslovanje zaštićenih rezervata prirode. Pretvaranjem nacionalnog parka ili zaštićene vrste u digitalni proizvod omogućava se ne samo popularizacija ideja zaštite, već je moguće i ostvariti dodatna finansijska sredstva kojima će se potpomoći rad samog rezervata prirode.

ICT pomaže u izgradnji kapaciteta

12 Daniel Smith, 2015 September Webinar IoAHTedited, TheCSAlliance, University of Cambrige, Cambrige Service Alliance, Published on Sep 15, 2015, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=DQew3ESgZoQ>

13 John Houghton, ICT and the environment in developing countries: opportunities and developments, Centre for Strategic Economic Studies, Victoria University, Australia, October 2009,

kako društvenih tako i infrastrukturnih koji predstavljaju preduslove za širenje

svesti o neophodnosti zaštite ugroženih životinjskih vrsta na sledeće načine¹³:

- Podizanje opšteg nivoa javne svesti o problemima opstanka i zaštite ugroženih vrsta
- Pruža mogućnosti za obrazovanje
- Pruža mogućnosti za profesionalni razvoj kadra neophodnog da bi se navedene vrste zaštitile.

INTERNET ŽIVOTINJA

Jedan od načina pretvaranja zaštićenih životinja u digitalni proizvod je i njihova popularizacija kroz takozvani internet životinja i animal social network. Internet životinja predstavlja nivo usluga direktno proizašlih iz IoT rešenja, dok se animal social network može opisati kao marketing strategija primene tehnika socijalnih mreža za popularizaciju zaštićenih životinjskih vrsta, stvaranje i jačanje povezanosti između pripadnika mlađe generacije i ugroženih životinja te kao marketing i biznis platforma na kojoj se obavljaju komercijalne poslovne aktivnosti i prikupljanje sredstava za očuvanje navedenih vrsta – prilozi za rendžersku službu, hranilišta, neophodnu infrastrukturu, prodaja umetničkih predmeta i suvenira kako bi se pribavila sredstva.

Neke od tehnika kako se navedeni koncepti primene ICT tehnologija koriste u realnom poslovanju vezanom za očuvanje zaštićenih vrsta su:

Nacionalna geografija je podigla veb sajt – agregator – na kojem se vide slike

sa svih životinja na koje su prikačene kamere pa korisnici sajta vide isto što i životinje.

Možemo koristiti infrastrukturu i trigere na način da životinja pošalje tvit ili poruku kad ulovi plen (recimo mačka ulovi miša).¹⁴ Na ovaj način se drži pažnja publike a brišu se svi „nezanimljivi kadrovi, odnosno, „dosadni“ periodi kada se životinja odmara i ne radi ništa“.

Mogućnost da u svakom trenutku korisnik mreže može locirati i pronaći životinju, te je snimiti (ekskluzivni snimak) – zahvaljujući činjenici da ogrlice šalju GPS koordinate korisnik mreže može pozicionirati na iste koordinate dron i snimiti ekskluzivan snimak što se posebno tarifira.

Mogućnost interaktivnog prenosa u slučaju kada vukovi ili risovi love (takođe korišćenjem više dronova čime se omogućava interaktivni prenos).

Takođe, u slučaju mogućnosti da se posetioci nacionalnog parka nađu u direktnom susretu s velikim predatorima

14 Dr Genevieve Bell, The Internet of Beings: Or, What are the Animals Telling Us?, Research Computing Centre, Published on Aug 9, 2016, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=iEosTaPyxOs>

15 Vint Cerf, The interspecies Internet? An idea in progress..., TED, Published on Jul 10, 2013, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=wGMLhaa98GI>

postoji mogućnost pravovremenog daljinskog obaveštavanja o nailasku opasnosti. O mogućnosti da se internet koristi kao interfejs za povezivanje različitih bioloških vrsta jedan od dizajnera interneta, Vint Cerf, izneo je sledeće mišljenje: „Kada je internet dizajniran mislili smo da je to sistem koji povezuje računare, a ispostavilo se da je sistem koji povezuje ljude, ono što sada vidimo je da ne treba da delujemo restriktivno i ograničimo mrežu samo na postojeće vrste povezivanja, već da i druge inteligentne vrste treba da koriste mrežu takođe.“¹⁵

Kako raste opterećenje nacionalnih parkova turistima tako raste verovatnoća slučajnog susreta između turista i životinja unutar parka. Ovo je utoliko važnije zbog toga što se divlje životinje u prirodnom okruženju često povređuju

i boluju od bolesti koje se mogu preneti na ljude, pa je od velikog značaja sanirati povrede i bolesti divljih životinja, kako se ne bi širile van granica nacionalnog parka. U vezi sa ovim, od presudnog značaja je što brže i sa što neinvazivnijom metodom pronaći bolesne životinje i izlečiti ih. U ovakvim slučajevima od posebne važnosti je brzo i lako lociranje životinje i njenog kretanja, što je veoma olakšano primenama GPS modema i wi-fi uređaja smeštenih u ogrlice i/ili narukvice pričvršćene na životinje (Project Code: 1810, 2017).¹⁶ Na ovaj način stiže se i jasan uvid u kretanje životinja pa se mogu pratiti životinje koje napuštaju zaštićena područja i napadaju stoku farmera. Na ovaj način moguće je locirati životinje počinioce i identifikovati njihove navike, a farmerima po potrebi nadoknaditi realnu štetu.

ELEMENTI SISTEMA

REPETITORI I AP

Osnovni problem jednostavnog i lakog daljinskog praćenja životinja ogleda se u činjenici da su se za to ranije koristile tehnologije zasnovane na emisionoj tehnici u području javno dostupnih frekvencija, te radio uređaji. Ova tehnologija je pouzdana, ali prilično zastarela u smislu da su uređaji gabaritni, te da je za njihovo napajanje potrebno dovesti relativno veliku količinu energije. Takođe, jedan od nedostataka pomenute tehnologije ogleda se u tome da je za potrebe praćenja potrebno izgraditi veći

broj stacionarnih primopredajnika koji su masivne građe i moraju biti postavljeni na antenske stubove koji se nalaze na međusobnom odstojanju srazmernom polovini talasne dužine EMS koji koriste. Ovaj tehnički zahtev često je ograničavao primenu radio talasne tehnike u posebno zaštićenim ekosistemima kao što su prašume, jer bi njihovo postavljanje u zaštićeni ekosistem bitno narušavalo isti, što zakonima o zaštiti rezervata prirode nije bilo dozvoljeno. Usled masivnosti primopredajnih antena nije bilo moguće

16 GPS based Wildlife animal tracking system, Microtronics Technologies, blog, 24.02.2017, dostupno na mreži: <http://www.projectsof8051.com/gps-based-wildlife-animal-tracking-system>

ni njihovo smeštanje u vazduhu, pa je ovo predstavljalo dodatni nedostatak u smislu adekvatnog praćenja divljih životinja. Pojavom novih ICT tehnologija, prvenstveno wifi tehnologije, a zatim i tehnologija mobilnog interneta, postalo je moguće prevazići navedene nedostatke, te napraviti odgovarajuću neinvazivnu infrastrukturu neophodnu za praćenje kretanja divljih životinja. Kako se zaštićeni nacionalni parkovi i drugi rezervati prirode nalaze daleko od urbanih sredina, upotreba ICT tehnologija, posebno u okruženjima kao što je džungla, skopčana je sa mnogim tehničkim, organizacionim i ekonomskim ograničenjima. Teško je na ekonomski prihvatljiv način ostvariti internet infrastrukturu u zabačenim i nepristupačnim regijama. Gugl projekat Loon omogućava način da se u zabačenim i ruralnim predelima obezbedi pouzdan internet pristup sa velikim brzinama i propusnim opsezima na ekonomski prihvatljiv način.¹⁷ Projekat Loon zasniva se na pokušaju da se baloni postavljene u stratosferu iskoriste kao nosači repetitora, odnosno WiFi AP uređaja, već je pokazao visok

nivo pouzdanosti, a repetitor postavljen ovako visoko omogućava ljudima i životinjama da imaju signal i tamo gde ga ranije nisu imali, ali i mogućnost da se odmah nakon velikih katastrofa mogu povezati na internet. Korišćenjem LTE tehnologije i balona omogućuje se ostvarivanje brzina 15 MB/s i 40 MB/s, u zavisnosti od radnog opsega i karakteristika antene klijentskog wifi uređaja.¹⁸ Ove brzine dovoljne su za IoT uređaje za prenos senzorskih podataka. Za velika prostranstva i šire zaštićene oblasti Wi-Fi tehnologija postaje neadekvatna i onda se mora preći na GPS i GSM tehnologiju, kako bi se životinje pratile na širem području. Ukoliko se broj predajnika povećava u smislu povećanja gustine, povećava se i gustina mreže koja se koristi za pozicioniranje. Za tačno prostorno pozicioniranje neophodan uslov je da je tag koji se prati dostupan odnosno povezan na bar tri AP. Još jedna prednost wi-fi tehnologije ogleda se i u tome da se AP može pozicionirati i u vazduhu, odnosno postaviti na dronove i/ili balon iznad oblasti koja ne sme biti narušavana unošenjem elemenata infrastrukture.

OGRlice

Drugi važan element sistema za praćenje divljih životinja u njihovom prirodnom okruženju je pasivni tag, odnosno, ogrlica koja sadrži wi-fi uređaj

u novije vreme integrisan sa senzorima za praćenje fiziologije i metabolizma životinje. Veće životinje, posebno predatori kakvi su lavovi, medvedi,

17 Project Loon : Now Google launches BALLOONS in bid to bring internet to the remotest places on Eart, [PatrynWorldLatestNew](https://www.youtube.com/watch?v=_0iqX9Lq5B8), Published on Jun 15, 2013, video, 24.02.2017, dostupno na mreži: https://www.youtube.com/watch?v=_0iqX9Lq5B8

18 Inside Google's wildly ambitious internet balloon project, The Verge, Published on Mar 2, 2015, video, 24.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=OFGW2sZsUiQ>

risovi ili vukovi sa lakoćom nose ove ogrlice i one im ne smetaju u normalnom obavljanju svih dnevnih aktivnosti. Kod ptica, ova vrsta taga najčešće se stavlja u obliku prstenova na noge jer je zbog ograničenja mase najčešće izvedena samo u vidu pasivne antene čime je omogućeno praćenje lokacije životinje ali ne i praćenje nekih drugih životnih funkcija. Svi sistemi praćenja koji se zasnivaju na postavljanju ogrlica ili drugih aktivnih markera /senzora na životinje imaju jedan nedostatak, naime oslanjaju se na baterije kao energetski izvor pa se ogrlice, odnosno baterije, povremeno moraju menjati kako bi uređaji za lokaciju radili. Jedan od načina prevazilaženja ovih problema je korišćenje senzora i modema sa malom potrošnjom i niskim zahtevanim profilom energetskog budžeta, ali i u ovim slučajevima problem trošenja baterija veoma je izražen. Kod nekih većih ptica pretežno lešinara moguće je i postavljanje ogrlice sa ograničenim brojem senzora dok se za lociranje koristi GPS modem. Preciznost praćenja pomoću ove vrste ogrlica definisana je na rezoluciju od 500 metara ako se za goniometrisanje koriste samo bazne stanice, dok se znatno povećava ako se goniometrisanje vrši i sa pokretnim objektom (dronovima za aktivno goniometrisanje) i može se smanjiti na ispod 10 metara.¹⁹ 3D pozicija se najčešće

dobija interpolacijom između mernih tačaka dobijenih direktnim merenjem.²⁰ Ovo dolazi i stoga što se većina kopnenih životinja relativno malo kreće u vertikalnoj ravni – retke, uglavnom periodične sezonske migracije.

Uređaji za praćenje (ogrlice) mogu se razvrstati prema primeni na osnovu sledećih karakteristika:

- Tip uređaja i tehnologija koja se koristi
- Energetski budžet i autonomija rada uređaja
- Veličina uređaja
- Broj senzora integrisanih u uređaj i njihova tačnost
- Data rate i network truthput
- Prilagođenost uređaja ponašanju životinje
- Način i mesto pričvršćivanja uređaja

Moderni sistemi za praćenje moraju podržavati i 2D i 3D mod praćenja divljih životinja. 3D mod praćenja posebno je zanimljiv za ptice, ribe, velike sisare koji žive u moru ili jezerskim vodama, životinje koje žive u krošnjama drveća, te životinje sa periodičnim migracijama sever–jug ili vertikalnim migracijama u više i niže predele.

- Neke od oblasti gde se danas primenjuju tehnologije ogrlica su²¹:
- Identifikacija pojedinačne životinje u grupi

19 M.K.Nor, M.S. Masbop, Smart Livestock Tracker, The International Journal of Engineering And Science (IJES), 2015, Volume 4, Issue 7, PP 25-29, ISBN (e): 2319-1813, ISSN (p): 2319-1805

20 Dr Robert Sinkovits: Improving Wildlife Tracking via HPC, Research Computing Centre, Published on 7 Dec 2015, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=uubLZwluEjU>

21 Lena M Holmberg, Internet of Animals, 05.07.2016, blog, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://lenamholmberg.blogspot.ba/2016/05/internet-of-animals.html>

- Praćenje životinje i njenog kretanja, kao i socijalnog ponašanja
- Praćenje zdravlja životinje
- Komunikacije između životinja i ljudi i između životinja i stvari (npr. hranilica, pojilica i slično)
- Mehanizmi za regulisanje ponašanja (razne vrste zvučnika koji se nose na ogrlici a koji se mogu daljinski aktivirati kad god životinja zađe u predeo koji je za nju zabranjen)

Kako autonomija rada uređaja zavisi od broja logova koje će uređaj poslati na neki server u jedinici vremena traži se prihvatljiva periodika za svaku vrstu praćene životinje. Ova periodika zavisi od vrste i roda ali i načina života i ponašanja jedinke. Tako na primer,

tagovane ribe mogu da se prate i do dve godine nakon postavljanja uređaja za lokaciju i praćenje. Energetski budžet mora da bude takav da omogući barem polovinu godišnjeg ciklusa – ogrlice se ne smeju menjati u sezoni parenja usled agresivnosti mužjaka. Takođe, mladunci se ne smeju opremiti ogrlicama dok ne postignu punu polnu zrelost usled intenzivnog rasta. Valja napomenuti i činjenicu da se kada se potroši baterija, ogrlica se cela menja, jer mora biti nepromočiva da bi senzorski sistem i antena mogli da rade, te da se većina ogrlica izvodi u takozvanim vandal proof kućistima u delu koji je vezan za smeštaj antene, napajanja i senzora (IP67 standard).

DRONovi

Problem pokrivanja teritorije, odnosno, praćanja populacije sa minimalnim brojem statičkih i dinamičkih senzorskih sistema rešava se optimalnom kombinacijom statičkih uređaja i dinamičkih robotizovanih autonomnih sistema (često nazivani i dronovi) za prikupljanje podataka. Optimalan broj dronova za visoko popularnu veb digitalnu platformu, dakle socijalnu grupu životinja koje su ekstremno popularne, može se proceniti na otprilike polovinu populacije, odnosno, jedan dron može da adekvatno prati više jedinki, posebno kod onih vrsta koje se okupljaju u čopore i krda. Veliki broj

dronova u ovakvim scenarijima koristi se za pojedinačno praćenje mužjaka samaca od kojih se može očekivati da uskoro napadnu dominantne mužjake i pokušaju da obezbede svoj položaj i pravo na ženke. Upravo zahvaljujući ovakvom fokusu izbegava se da se previše vremena ostavi na nezanimljive sadržaje kada se životinje odmaraju i ne rade ništa, što bi publici bilo posebno interesantno. Osim što služe za praćenje, snimanje i kontrolu pojedinačnih životinja, dronovi se u nacionalnim parkovima koriste i za kontrolu oboda i sprečavanje krivolova na zaštićene vrste i/ili seču šume u zaštićenom području.

Na ovaj način dronovi postaju esencijalni alat za poboljšanje rada rendžerske službe, ali i za kontrolu njenog rada, jer omogućavaju globalni uvid šire javnosti u dešavanja i moguće nelegalne aktivnosti unutar nacionalnih parkova. Dronovi se koriste i za prikupljanje podataka o distribuiranim sistemima kao što su jata riba ili jata komaraca ili drugih letećih insekata i ptica. Upotreba autonomnih robota pri tome omogućava sagledavanje mnogo šire slike od one koju bi dali statički raspoređeni uređaji, jer pored geometrijskih podataka (položaj, distribucija, trajektorija) daju i izvestan broj semantičkih informacija kao što je na primer broj defektnih plodova (jabuka) na stablu.²²

Prvi zadatak automatizovanih robotskih sistema za praćenje divljih životinja u prirodi je pronaći, odnosno, detektovati signal sa ogrlice, odnosno, taga. Ovaj zadatak u smislu disperzno distribuiranih sistema kao što su jata riba ili jata ptica moguće je izvršiti automatskim algoritmima za pretraživanje: dron (brodić) obilazi neku površ i u njoj traži signale koje obrađuje (broji, sakuplja podatke nakon što inicijalizuje komunikaciju i slično) zatim ih obrađuje i u agregatnom obliku šalje na neku cloud lokaciju gde se nalazi poslovna logika i softver za mapiranje koji daje GIS podatke preko mape nekog terena.

Pokrivanje teritorija autonomnim robotima vrši se sledećim tehnikama pretraživanja:

- Stacionarni model pretrage pokrivenosti
- Stohastički model – random kretanje dronova koji prikupljaju podatke
- Kontradiktorno – unakrsno prikupljanje podataka sa sledeća dva modela teorije igara:
 - o Aktivno izbegavanje susreta
 - o Igra pokušaja izbegavanja (igra mačke i miša)

U smislu aktivnih uređaja za snimanje stanja, na dronovima se često koriste LiDAR kamere sa rezolucijama snimanja dovoljno velikim da se pomoću njih izvrši mapiranje svih snimljenih elemenata ekosistema, pri čemu se dobijaju realni 3D prikazi trenutnog stanja sistema, odnosno, omogućava realno kretanje kroz elemente sistema u svim pravcima.

Prednosti korišćenja dronova u smislu zaštite nacionalnih parkova, ali i uvida u život i ponašanje divljih životinja na slobodi u odnosu na druge tehnologije ogledaju se u²³:

- Jeftina tehnologija (u poređenju sa avionima, i velikom on site patrolnom službom)
- Laki za korišćenje

23 Wildlife conservation with the help of drones: Kitso Epema at TEDxUtrecht, TEDx Talks , Published on 28 Apr 2014, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=LT9q6kra9Oc>

24 Using drones to conserve natural habitats | Professor Serge Wich | TEDxLiverpool, TEDx Talks, Published on 20 Aug 2014, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=GTsMi43Mugo>

- Dostupni za korišćenje (standardna tehnologija koja se brzo razvija)
- Multifunkcionalna platforma – mogu da se koriste za praćenje životinja, prikupljanje podataka sa ogrlica i senzora koje životinje nose ili imaju prikačene na svom telu, snimanje prirode i životinja u prirodi, praćenje ljudi (turista, zalutalih osoba, traganje i onemogućavanje delovanja lovokradica i onih koji pokušavaju nelegalnu seču drveća), rano otkrivanje i lokalizacija požara, obaveštavanje najbliže patrole rendžera i podrška za operacije na terenu, podrška za brze odgovore

U dodatne prednosti primene dronova mogu se ubrojati²⁴:

- Laka lokacija prilično teško uočljivih životinja koje retko izlaze na čistinu (orangutani, gorile, šimpanze u tropskim šumama) – zahvaljujući dronovima lako ih je otkriti i pratiti migracije
- Zahvaljujući Ai tehnologijama (automatic optical rekognition) raste verovatnoća prepoznavanja naseobine u krošnjama;
- Dronovi mogu da se koriste u scenariju „data mule“, pri čemu u

letu prikupljaju podatke sa senzora i kamera (statičkih) kako bi im oslobodile memoriju za budući rad, pražnjenje data logera, zbog mogućnosti niskog leta moguća je komunikacija u bliskom polju, pa se koristi manje energije za komunikaciju i postoji mogućnost prenosa velikih fajlova (snimci sa kamere u HD rezoluciji);

- U odnosu na klasične tehnike ručnog prikupljanja podataka o životinjama, dronovi su i do 200 puta efikasniji od ljudi (dronovima je potrebno oko 20 minuta da lociraju životinju i prikupe podatke sa uređaja za praćenje. Biolozima i rendžerima je za isti zadatak potrebno do 3 dana (uz korišćenje tehnike lovačkog praćenja).
- Dronovi mogu da lete dovoljno nisko i da daju slike velikih rezolucija, kao i da snimaju u infracrvenom opsegu;
- Sve ULL pa i dronove moguće je izraditi u DIY izvedbi;
- Usled velikih ušteda zasnovanih na visokoj efikasnosti letilica moguća je realokacija budžetskih sredstava i nabavka dodatne opreme (drugih vrsta hardvera i softvera koji mogu da se koriste na dron platformama)

PRAVNA OGRANIČENJA KORIŠTENJA AUTOMATSKIH ROBOTIZOVANIH SISTEMA I RUČNO VOĐENIH DRONOVA

Iako su dronovi možda i najefikasnije platforme za praćenje života divljih životinja u njihovom prirodnom okruženju i stoga izuzetno zanimljiva tehnička rešenja koja bi koristili mnogi

pojedinci i uprave nacionalnih parkova, njihovo masovno uvođenje u upotrebu na ovom polju otežano je usled činjenice da su dronovi novo pravno područje u kojem ne postoji jasna regulacija, te

činjenicom da zakonodavci kasne sa pravnim okvirom za njihovu upotrebu. Poseban problem primene dronova u ovu svrhu predstavlja i činjenica da se dronovi obično i ne proizvode u zemljama upotrebe te da za njihovu proizvodnju ne postoje jasni standardi kvaliteta kojeg bi se proizvođači i uvoznici trebali pridržavati. Ovome treba pridodati i mogućnost da dronovi budu izrađeni u kućnoj radinosti, odnosno, DIY verziji proizvodnje pa je jasno o kakvoj vrsti disperzije raznorodnih rešenja je reč. Kako dronovi spadaju u letelice, tako su u većini zemalja za njih nadležne posebne regulatorne komisije i kontrole letenja (ako plafon leta prelazi određeni prag definisan lokalnim zakonima) i let se izvodi mimo ograničenih areodromskih područja. Poseban problem predstavljaju i činjenice da se dronovi najčešće koriste u svrhu vazdušnog izviđanja, te na sebi imaju montirane kamere koje se mogu zloupotrebiti za neovlašten nadzor, praćenje pa čak i u svrhu voajerisanja, što sve potpada pod posebne zakone koji još u većini država nisu prošireni i na ovaj novi pravni domen. Razmatrajući mogućnosti i pravna, moralna i druga ograničenja upotrebe dronova moramo se zapitati i razrešiti sledeća pitanja²⁵:

- Ko reguliše prava korišćenja letelice i na koji način?
- Kako se dobija dozvola za upravljanje dronovima? Ko izdaje dozvolu ili ovo područje još nije regulisano?

- Ko je odgovoran u slučaju pada letelice? Posebno ako ona svojim padom načini materijalnu štetu i/ili ugrozi ljudske živote?
- Postoje li propisane zakonske procedure za održavanje letelice? Postoje li sertifikati i koja stručna tela ih izdaju kako za letelice tako i za one koji ih održavaju?
- Treba li dron da ima svoju knjigu – log upotrebe i kako se vodi?
- U slučaju DIY izvedbe, ko izdaje upotrebnu dozvolu? Kako se kontroliše kvalitet izrade i da li su zadovoljeni bezbednosni standardi?
- Kako je regulisano pitanje upotrebe dronova koji nose instrumente za snimanje u vidljivom spektru – kamere, s obzirom na privatnost onih koji mogu biti obuhvaćeni snimljenim materijalom?
- Koja je minimalna visina leta – koju propisuje regulatorna agencija za vazdušni saobraćaj?
- Da li neki državni autoritet – agencija kojoj se obraćate, uopšte ima kompetencije da odgovori na vaša pitanja u vezi sa regulativom iz oblasti upotrebe dronova?

Ono što je posebno potrebno naglasiti je činjenica da, iako su dronovi idealna platforma za primenu u oblasti nadgledanja i praćenja divljih životinja, u njihovim prirodnim habitatima određene

25 Best and worst states when it comes to drone laws, Drone U, Published on 6 Sep 2016, video, 24.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=p7DEAXLXeZY>

zemlje pravno zabranjuju njihovu upotrebu u nacionalnim parkovima. Tako je na primer u Meksiku zabranjena upotreba dronova u nacionalnim parkovima, dok je u pojedinim Američkim savezним državama ova zabrana proširena usled mogućeg voajerizma i / ili trgovine narkoticima preko granice te se za korišćenje ove tehnologije u graničnim područjima može dobiti i do 5 godina zatvora.

Čak i u slučajevima da su pojedina područja primene dronova regulisana pravno, postoji mogućnost tužbe, ali u tom slučaju onaj ko se žali na narušavanje privatnosti mora dokazati da je postojala namera da se ova tehnologija zloupotrebi

u svrhu narušavanja privatnosti žalioca. Protivargument u ovakvoj pravnoj borbi svakako je pozivanje na razumno očekivanje privatnosti s obzirom na moderne tehnologije koje imaju slične mogućnosti uvida u nečiju privatnost. Ovo je posebno interesantno s obzirom na to da se na povredu privatnosti najčešće pozivaju lovokradice i turisti koji su prekršili neko od pravila nacionalnog parka (palili vatru, bacali smeće, oštećivali rastinje i slično) pa je u svrhu primene dronova kao mere zaštite prirodnog okruženja za divlje životinje neophodno doneti odgovarajuću jasnu pravnu regulativu kojom bi se ova oblast jasno i nedvosmisleno uredila.

SERVERSKA INFRASTRUKTURA I SOFTVER

Sledeći značajan deo infrastrukture je serverska i storage infrastruktura koja se može izvesti i kao Cloud rešenje, odnosno, ne mora biti direktno vezana za lokaciju. Prednosti ovakve izvedbe ogledaju se prvenstveno u mogućnosti da se na taj način izvede adekvatna infrastruktura koja bi u zavisnosti od prava pristupa i mogućnosti namenskog klijentskog softvera različitim zainteresovanim stranama davala upravo informacije i podatke koji su im potrebni, te odvajala komercijalne podatke koji bi se koristili u obliku pogodnom za marketinško predstavljanje životinja, kako bi se stvorila kritična masa onlajn pratilaca i obezbedilo finansiranje nacionalnog parka ili drugog oblika organizacije na zaštićenoj teritoriji i podataka koji se dostavlja biolozima, veterinarima

i analitičarima neophodnih u smislu dobijanja adekvatnih analiza te naučno i stručno proučavanje ponašanja životinja. U elemente hardverske infrastrukture sa strane data centra spadaju: Server, Storage uređaji, firewall, DRC, odnosno sledeća virtualna infrastruktura: VM-web server, VM-RBDMS, VM-image, FTP, VM-AVServer, VM-AppServer, VM-Interoperability Sistem, VM-ImageSocijalneMreze. Sva navedena hardverska i softverska infrastruktura može biti izvedena i kao usluga koja se iznajmljuje na određeni period, pa se na ovaj način može omogućiti lakše finansiranje projekata zasnovanih na praćenju životinja, bilo da su oni komercijalne prirode ili su deo nekog naučnog istraživanja.

PRIKUPLJANJE PODATAKA

Sposobnost prikupljanja i obrade verodostojnih informacija o raznim aspektima okoliša omogućuje kvalitetan nadzor i upravljanje, kako prirodnim resursima tako i spoljnim uticajima koji mogu ugroziti okoliš.²⁶ Prikupljanje podataka modernim ICT tehnologijama umnogome je diktirano i činjenicom da dobrim odabirom tehnologije prikupljanja podataka, podatke možemo prikupljati na minimalno invazivan način sa stanovišta uplitanja u ekosistem, pa se i rizici po sigurnost okoliša u vezi sa prikupljanjem podataka mogu minimizirati.

Prikupljanje podataka može se odvijati na dva zasebna nivoa: na nivou podataka o samoj životinji, pri čemu se prate i beleže podaci –indikator stanja životinje i na nivou ekosistema, pri čemu se prate i beleže parametri okoline preuzeti iz šireg ekosistema. Praćenje ovih potonjih ne zahteva mobilne uređaje, već se zasniva na stacionarno postavljenim senzorima koji samim tim što su nepokretni nemaju ograničenja po masi, a samim tim ni energetsom budžetu koje moraju da zadovolje ogrlice koje se stavljaju na životinje.

Ovako primenjeni ICT sistemi na proaktivan način osiguravaju održivost

i zaštitu ekosistema u celini, a ne samo pojedinačnih bioloških vrsta.

Takođe, važno je napomenuti i sledeće činjenice. Bez upotrebe IoT tehnologija u praksi veterinari zasnivaju svoje znanje o pacijentima i njihovim tegobama na kratkim konsultacijama sa rendžerima i biolozima koji su primetili neuobičajeno ponašanje životinje.²⁷ Činjenica je da se većina nacionalnih parkova na ovaj način brine o svojim životinjama, pa i posebno zaštićenim vrstama, jer je to do sada bio uobičajeni oblik praćenja i upravljanja životinjama. Kako je ovo vrlo nepouzdan način praćenja zdravlja, pravac razvoja integrisanih cloud baziranih rešenja nad prikupljenim podacima ide u pravcu iznalaženja algoritama koji bi za svaku pojedinačnu životinju pravili matricu obrazaca ponašanja i upoređivali je sa trenutnim ponašanjem životinje, te na osnovu toga zaključivali da li se životinja ponaša u granicama uobičajenog ili van tih granica, kada bi se uključili mehanizmi za automatsko dodatno praćenje i uključivanje veterinarskog tima. S ovim u vezi važno je napomenuti da za većinu divljih životinja ne postoje jasne referentne vrednosti bioloških indikatora, jer jednostavno nikada nije izvršeno dovoljno merenja koja bi mogla

26 Mira Mileusnić Škrtić, Karolina Horvatinić, Dragutin Vuković, Rizici i mogućnosti primjene novih tehnologija s obzirom na zaštitu okoliša i održivost – s aspekta primjene ICT-a, znanstveni simpozij RAZVOJ I OKOLIŠ – PERSPEKTIVE ODRŽIVOSTI, 2011, dostupno na mreži: https://bib.irb.hr/datoteka/550944.Rizici_i_mogucnosti_primjene_novih_tehnologija.pdf

27 Anne Accardi, How the Internet of Things is Impacting Animal Health Part 2: Companion Animals, 11.09.2017, Engage Mobile, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://www.engagemobile.com/how-the-internet-of-things-is-impacting-animal-health-part-2-companion-animals/>

omogućiti da se na osnovu trenutnih očitavanja mogu pouzdano predviđati buduća ponašanja životinje, te procene njenog zdravstvenog stanja.²⁸ Ova okolnost vodi ka smanjenoj tačnosti predviđanja ponašanja životinja, ali govori i o neophodnosti da se do ovih podataka u što kraćem vremenskom roku dođe, pa je pored klasičnog BigData modela vrlo verovatna primena algoritama mašinskog učenja i veštačka inteligencija.

Takođe, navedene tehnologije za prikupljanje podataka imaju velike prednosti i kada se gleda na procene u vezi sa opterećenjem nekog izolovanog ekosistema brojem jedinki određene vrste. Danas se najčešće upravlja šumskim gazdinstvima na osnovu podataka koji predstavljaju procenu populacije neke vrste. Za predatore je na primer potrebno proceniti broj najmanje 3 puta godišnje u zavisnosti od smene godišnjih doba i perioda parenja i podizanja mladunaca, pri čemu se kao metode za procenu uzimaju sledeći podaci: direktno prikupljeni, indirektno prikupljeni, metoda ponovnog hvatanja i brojanje označenih životinja i procena

populacione gustine na osnovu pretpostavljenog socijalnog ponašanja životinja uz primenu statističkih metoda.²⁹ Na ovaj način se često ne dobijaju dovoljno tačni podaci, a moguće su i zloupotrebe te kalkulacije u vezi sa izlovom krupnog i kapitalnog plena. Brojanje populacije i statističke metode u budućnosti će zameniti sistemi za direktno praćenje divljih životinja koji će istovremeno postati i medijska platforma za širenje svesti o potrebi očuvanja datih vrsta. Prikupljanjem realnih podataka sa terena moguće je donositi dobro zasnovane i informisane odluke u vezi sa održavanjem ekosistema u granicama bioloških mogućnosti ali i predviđanja adekvatnih scenarija za kritične situacije. Tako se u slučaju prenaseljenosti, odnosno naglog porasta populacije neke vrste može odlučiti i za tehnički premeštaj dela mladih nedozrelih životinja u lokalne ili udaljene zoološke vrtove čime bi se sprečila restriktivna politika odstrela. Takođe, moguća je primena scenarija hranjenja na način koji oponaša prirodne procese u ekosistemu – hranjenje se izvodi u skladu sa periodičnim migracijama životinja.

ZAKLJUČAK

Iz svega navedenog vidljivo je da moderne ICT tehnologije predstavljaju ne samo tehnološku osnovu za prikupljanje

podataka za naučna i stručna izučavanja ponašanja divljih životinja, već i vrlo pogodnu osnovu za nadzor i upravljanje

28 Dr Elisabetta Canali, ANIMAL WELFARE ASSESSMENT THROUGH SMARTPHONE APPLICATIONS: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES, OIEVideo, Published on Dec 7, 2016, video, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=FK1vcB-G9nk>

29 ESTIMATING WILDLIFE POPULATIONS, FW (ZO) 353, Wildlife Management, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://projects.ncsu.edu/cals/course/fw353/Estimate.htm>

nad realnim operacijama unutar nacionalnih parkova. Kao prioritet se u bliskoj budućnosti stvara potreba da se navedene tehnologije implementiraju kako bi se postigli obrazovni, naučni i komercijalni ciljevi i dugoročno omogućilo dodatno finansiranje parkova i svih radnji i operacija vezanih za zaštitu životinja. Ovo je utoliko važnije kada se

uzme u obzir činjenica da se navedenim poslovnim modelom zasnovanim na poslovnom modelu interneta životinja i same ugrožene vrste uključuju u obezbeđenje finansijskih sredstava neophodnih za zaštitu, te se samim tim smanjuje opterećenje na budžet i procesi zaštite divljih životinja postaju kako transparentni tako i samoodrživi.

LITERATURA

1. W. W. Cochran, D. W. Warner, J. R. Tester, V. B. Kuechle, Automatic Radio-Tracking System for Monitoring Animal Movements, Reprinted from BioScience, Vol. 15, No.2, 1965, pp 98-100, dostupno na mreži: https://www.researchgate.net/publication/247840577_Automatic_Radio_Tracking_System_for_Monitoring_Animal_Movements
2. ERIC SCHMITT, 'Natural' Habitats Offer Insights Into Social Behavior of Animals, The New York Times, January 26, 1988, dostupno na mreži: <http://www.nytimes.com/1988/01/26/science/natural-habitats-offer-insights-into-social-behavior-of-animals.html>
3. Jessica Ellis, Mel Hall, Phil Ong, Leif Wege, Natalie Paterson, Chelsea Smith, Animal Testing at Dalhousie University: A brief insight into social, economic, and environmental effects of nonhuman animal testing, Dalhousie University, 2010, dostupno na mreži: <https://www.dal.ca/content/dam/dalhousie/pdf/science/environmental-science-program/ENVS%203502%20projects/2010/AnimalTesting.pdf>
4. Allan Savory, How to green the world's deserts and reverse climate change | Allan Savory, Published on Mar 4, 2013, video, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=vpTHi7O66pI>
5. Tyler Stitt, Julie Mountifield, Craig Stephen, Opportunities and obstacles to collecting wildlife disease data for public health purposes: Results of a pilot study on Vancouver Island, British Columbia, Canadian Veterinary Journal, 2007 Jan; 48(1): 83–90., dostupno na mreži: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716737/#>
6. Tatjana Ratknic, 2017: UGROŽENE BILJNE VRSTE U SRBIJI, Ekološko-šumarski centar "Sylva", dostupno na mreži: <http://sylva.rs/doc/Ugrozene%20biljne%20vrste%20u%20Srbiji.pdf>
7. Zaštita ugroženih vrsta u BiH, blog biolog.ba, 24.05.2017, dostupno na mreži: <http://biolog.ba/58-zastita-ugrozenih-vrsta-u-bih.html>

8. Randall Abate, What Can Animal Law Learn from Environmental Law?, Environmental Low Institute, West Academic, 2015 pp 160, ISBN 978-1-58576-176-0
9. Fish and Wildlife Service I&M: Connecting Science-driven Monitoring to Management, National Wildlife Refuge System Inventory and Monitoring (I&M) initiative, Published on 4 Aug 2012, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=XutmC7QRGUM>
10. Priya Joshi, Wildlife conservation through innovative technology: Priya Joshi at TEDxKathmandu, TEDx Talks, Published on 10 Jan 2013, video, 24.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=bgM5kHZYrO8>
11. Wi-Fi in the woods: Canada plans to install web hotspots across its national parks and historic sites, Daily Mail, 29 April 2014, On Line izdanje, 24.12.2016, dostupno na mreži: <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2616007/Wi-Fi-woods-Canada-plans-install-web-hotspots-national-parks-historic-sites.html#ixzz4TmNxjQeH>
12. Daniel Smith, 2015 September Webinar IoAHTedited, [TheCSAlliance](#), University of Cambrige, Cambrige Service Alliance, Published on Sep 15, 2015, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=DQew3ESgZoQ>
13. John Houghton, ICT and the environment in developing countries: opportunities and developments, Centre for Strategic Economic Studies, Victoria University, Australia, October 2009,
14. Dr Genevieve Bell, The Internet of Beings: Or, What are the Animals Telling Us?, Research Computing Centre, Published on Aug 9, 2016, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=iEosTaPyxOs>
15. Vint Cerf, The interspecies Internet? An idea in progress..., TED, Published on Jul 10, 2013, video, 23.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=wGMLhaa98GI>
16. GPS based Wildlife animal tracking system, Microtronics Technologies, blog, 24.02.2017, dostupno na mreži: <http://www.projectsof8051.com/gps-based-wildlife-animal-tracking-system/>
17. Project Loon : Now Google launches BALLOONS in bid to bring internet to the remotest places on Eart, [PatrynWorldLatestNew](#), Published on Jun 15, 2013, video, 24.02.2017, dustupno na mreži: https://www.youtube.com/watch?v=_0iqX9Lq5B8
18. Inside Google's wildlly ambitious internet balloon project, The Verge, Published on Mar 2, 2015, video, 24.02.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=OFGW2sZsUiQ>
19. M.K.Nor, M.S. Masbop, Smart Livestock Tracker, The International Journal of Engineering And Science (IJES), 2015, Volume 4, Issue 7, PP 25-29, ISBN (e):

2319-1813, ISSN (p): 2319-1805

20. Dr Robert Sinkovits: Improving Wildlife Tracking via HPC, Research Computing Centre, Published on 7 Dec 2015, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=uubLZwIuEjU>
21. Lena M Holmberg, Internet of Animals, 05.07.2016, blog, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://lenamholmberg.blogspot.ba/2016/05/internet-of-animals.html>
22. Ibrahim Volkan Isler, Associate Professor, University of Minnesota, RI Seminar: Ibrahim Volkan Isler : Robotic Data Gathering in the Wild, November 04, 2016, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=tcTUv0wW7J8>
23. Wildlife conservation with the help of drones: Kitso Epema at TEDxUtrecht, [TEDx Talks](#), Published on 28 Apr 2014, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=LT9q6kra9Oc>
24. Using drones to conserve natural habitats | Professor Serge Wich | TEDxLiverpool, TEDx Talks, Published on 20 Aug 2014, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=GTsMi43Mugo>
25. Best and worst states when it comes to drone laws, Drone U, Published on 6 Sep 2016, video, 24.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=p7DEAXLXeZY>
26. Mira Mileusnić Škrtić, Karolina Horvatiničić, Dragutin Vuković, Rizici i mogućnosti primjene novih tehnologija s obzirom na zaštitu okoliša i održivost – s aspekta primjene ICT-a, znanstveni simpozij RAZVOJ I OKOLIŠ – PERSPEKTIVE ODRŽIVOSTI, 2011, dostupno na mreži: https://bib.irb.hr/datoteka/550944.Rizici_i_mogucnosti_primjene_novih_tehnologija.pdf
27. Anne Accardi, How the Internet of Things is Impacting Animal Health Part 2: Companion Animals, 11.09.2017, Engage Mobile, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://www.engagemobile.com/how-the-internet-of-things-is-impacting-animal-health-part-2-companion-animals/>
28. Dr Elisabetta Canali, ANIMAL WELFARE ASSESSMENT THROUGH SMARTPHONE APPLICATIONS: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES, OIEVideo, Published on Dec 7, 2016, video, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=FK1vcB-G9nk>
29. ESTIMATING WILDLIFE POPULATIONS, FW (ZO) 353, Wildlife Management, 02.03.2017, dostupno na mreži: <https://projects.ncsu.edu/cals/course/fw353/Estimate.htm>

Rad primljen: 18.6.2017

Rad prihvaćen: 18.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801132M

UDK: 639.1.02:004.35

Review scientific paper

ICT SYSTEMS FOR MONITORING AND PROTECTION OF WILDLIFE IN THEIR NATURAL ENVIRONMENT

Branko MARKOVIĆ^{1*}, Drago NEDIĆ², Savo MINIĆ³

1 Branko Marković, B.Sc.Mech.Eng, „Prointer“ IT Solutions and Services, Vuka Karadžića 2, Banja Luka, Republika Srpska

2 Dr. Drago N. Nedić, full professor, The Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18, Beograd Srbija

3 Savo Minić, LL.M, Minister of Agriculture, Forestry and Water Management of Republic of Srpska, Trg Republike Srpske 1, Banja Luka, Republika Srpska

* corresponding author: Branko Marković: markovic.branko@prointer.ba

Abstract: The paper deals with systems for monitoring and protection of wild animals in their natural environments and the use IoT technologies and solutions in protected nature reserves. The paper also examines the reasons and possibilities for implementing the above mentioned technical solutions, especially in terms of protecting species from the red list of endangered species. In this sense, the paper also discusses technological solutions and the possibilities of applying IoT working framework, the concept of the Internet of animals, and the application of these technologies through various business and research models. Finally, the paper provides examples of solutions from the point of view of the necessary infrastructure (servers, storage, internet, animal necklaces, stationary cameras and drones), as well as from the point of view of data processing and the legal framework for the application of these solutions.

Key words: IoT, wild animals, endangered species

INTRODUCTION

The problem of research, but also the popularization of wildlife in their natural ecosystems today, is gaining on its actuality for several reasons. The main reason for this increased interest in field research of wildlife in their natural environment lies in the possibilities

of remote tracking of animals, but also the processing of results and measurements, which are possible with new ICT technologies, and in the fact that due to industrial development, a large number of natural environments of these animals simply disappeared as

a consequence of the construction of civilian infrastructure and the increased needs for the living space. In this way, the living space of wild animals is reduced, and thus the ecosystem's ability to provide living space, food and other vital needs for a certain number of animals. These processes are unsustainable and lead directly to the extinction of certain endangered species, predominantly predators, which are at the top of the food chain in an ecosystem. As the chances of finding food decrease, wild animals might desperately seek food outside of limited and isolated ecosystems which increases the possibility of an encounter between wild animals and people. This leads to a new pressure, for farmers who are directly affected by this behavior of the predators, as well as for the ecosystem itself, because taken actions include hunting which limits the number of predators making it constantly reduced and the mentioned species is soon coming to the brink of extinction. As everything in nature is connected, this has unimaginable consequences for the entire ecosystem which over time collapses and in a relatively short time transforms into a civil park whose characteristics are in line with the expectations of the population and serves as a recreation space instead of a living space for endangered species which was his original purpose.

The ability to monitor wildlife in their surroundings helps prevent these situations and this is one of the main commercial reasons of increased

interest in techniques and technology for monitoring wildlife in their natural environment.

Another important factor causing increased interest and the use of animal tracking techniques, is reflected in the activities of the groups for the protection of endangered species that try to ensure the survival of wild animals in restricted and de facto dysfunctional ecosystems in a way that it is regulated by nature.

The third important factor is definitely the attempt of the biologist to study the behavior of wild animals in a way that thanks to new non-invasive technologies they follow them from a distant location avoiding any possible interaction with the ecosystem as such, and in that way they conduct an adequate investigation of the behavior of both individual members and groups of animals, paying special attention to the social and territorial behavior of wild animals. With this in mind, we should emphasize the following: in order to learn about the life and behavior of wild animals, so far we have been limited to individual observations and biological expeditions. A biologist would enter an ecosystem trying not to disturb it by his observing and studying while hoping to discover patterns of wild animal / species behavior and its interaction with other elements or species within the ecosystem. This method of studying animals, apart from being long-lasting, uncertain and extremely tough for the researcher, is also based on the most economically advantageous model.

The entire research is based on the expectation that an individual will be able to see, classify and sort key events in an acceptable time and at an acceptable price. He should also be able to learn and understand the behavior of a group of observed animals, recognize the patterns, draw conclusions and formalizes the acquired knowledge by establishing scientific principles that are essentially logically consistent, verifiable and provable. It should be emphasized that the primary requirement regarding the understanding of the animals' behaviour is related to the knowledge of where the animal is and what it is currently doing, because this knowledge, monitored and recorded over a longer period of time, is the basis for further study. Based on the aforementioned, the natural necessity for food, water, movement, rest, and other physiological needs and habits can be crystallized by a diligent analysis.¹

This practice of primarily biological studies of wild animals began to change somewhat during the 1960s when, for the first time, monitoring methods based on the equipping monitored animals with adequate active or passive tags (collars, marking ring) began to be used, along with a radiogoniometre to approach the location and determine the position and daily walk of the animal.

The fourth factor causing an increased interest in wildlife monitoring

technologies is reflected in the fact that, thanks to the mentioned technologies and the application of other ICT technologies, the mentioned ecosystems and animals can be presented in a more adequate way, which is interesting both from the commercial point of view and at the educational level. This trend will grow as the demographic structure of the audience, to which such content is intended, is changing. Young generations experience the perception of reality through social networking technologies, that are applicable to animals in an ecosystem, rather than in direct contact with those animals. Thus, the question of the establishment and preservation of national parks is reduced practically to the recognition of the function of the same, that is, on the presented reasons for their existence and managing, that is, the way in which animals are treated within them, and what popularity they could achieve on global information market.

This practically means that the survival of individual national parks and the animal world in them, especially when it comes to large predators from the top of the food chain, depends on an adequate presentation of them, through ICT technologies, primarily social networks and profiles, as this is the way in which the modern population not only perceives reality, but also decides on the needs and conditions of funding them.

1 W. W. Cochran, D. W. Warner, J. R. Tester, V. B. Kuechle, Automatic Radio-Tracking System for Monitoring Animal Movements, Reprinted from BioScience, Vol. 15, No.2, 1965, pp 98-100, available at: https://www.researchgate.net/publication/247840577_Automatic_Radio_Tracking_System_for_Monitoring_Animal_Movements

Other social impacts that affect the need for better observation of animals and their behavior in the natural environment

The activities of the animal protection groups have created pressure on zoos and animal users to provide a more natural environment for animals in this type of detention, both in terms of habitat and in terms of the social environment and nutrition. To ensure this, many zoocentres now create simulated natural habitats and observe the social abilities and behavior of even the most common animals.² This initiative for protecting wildlife in zoo gardens, has led to an increased need for these same animal species to be studied in their natural environments in order to respond to the requirements, set up by groups for the protection of animal rights, in terms of keeping them.

The problem of hunting, fishing and managing hunting resources in areas not under a special protection regime (forests, mountain hills) is reflected in an insufficiently clear methodology for the determination of hunting quotas, which often do not correspond with any recognized methodology but with the current needs of civil society around these ecosystems.

In the areas outside protected nature reserves, large predators' survival

depends on the management of local interests, both the interest of hunting associations and the interests of local farmers. One of the serious problems, especially when it comes to predators from the top of the food chain, which are also the most endangered ones. One of the serious problems, especially when it comes to predators from the top of the food chain who are also the most endangered because they tend to remain without enough food, is reflected in the fact that they, in our area especially wolves and bears, are trying to look for food outside forestry farms where they are still imperceptible and therefore protected from hunters to some extent. If a wolf attacks a domestic animal, in the first place the cattle on pasture, not only he will be hunted, but probably many other members of the pack. They are automatically proclaimed vermins and the most restrictive measures are taken toward all the members of the same species. The systems for continuous remote tracking of predators represent a possible solution to this problem, as this creates a constant insight into the behavior of animals and their presence in a certain territory, and it is possible to create preconditions for releasing the same from the stigma of guilt for cattle attacks. In this case, it can be said that there is a strong social aspect of the use of animal tracking technologies, since the

2 ERIC SCHMITT, 'Natural' Habitats Offer Insights Into Social Behavior of Animals, The New York Times, January 26, 1988, dostupno na mreži: <http://www.nytimes.com/1988/01/26/science/natural-habitats-offer-insights-into-social-behavior-of-animals.html>

release of animals from a social point of view also means freeing people. Several authors emphasize that problems related to the ecological crisis that has become global are due to anthropomorphic point of view and personal interests and that in order to preserve the existing protected ecosystems it is necessary to change this view of the world.³

Due to the continuous civilization progress, there are land conversions. Due to the interruption of natural cycles and the process of violent urbanization, the land that was previously part of a special ecosystem rapidly depletes to the level of its transition to completely uninhabited land which leads to desertification.

According to Allan Savory, a biologist, this process can be prevented if the land is used to mimic the natural fluctuations of ecosystems. He claims that the predators' role is to force animals they feed on to move, and thus they do not realize local influence in terms of polluting their environment beyond the limits of self-sustainability of an ecosystem. In this way, the predators actually enable the survival of a complete ecosystem with all kinds in it. Removing the predator from the ecosystem will not

save any protected species, and in the long term it will lead to the collapse of this ecosystem into desertification land.⁴ From this point of view, it becomes clear how important it is to have a real and regular insight into the movement and behavior of wild animals, especially predators, because by mimicking natural cycles, part of the desertified soil can be recovered into self-sustaining ecosystems in a shorter period of time.

Many countries today face the need to harmonize and organize public health, cattle health and wildlife health. Occurrences such as diseases that spread from natural habitats to urban environments are no longer so rare, as we've witnessed with bird flu, hantavirus, and Western Nile virus. Faced with the need to protect natural ecosystems, as well as their own population, many countries, such as Canada, have set up special agencies to track wildlife mortality, look for its causes, foreknow and try to reduce the risks for public health.⁵ Such widespread networks enable healthcare organizations to work preventively rather than reactively, and largely avoid and reduce the negative effects of biological hazards that come

3 Jessica Ellis, Mel Hall, Phil Ong, Leif Wege, Natalie Paterson, Chelsea Smith, Animal Testing at Dalhousie University: A brief insight into social, economic, and environmental effects of nonhuman animal testing, Dalhousie University, 2010, available at: <https://www.dal.ca/content/dam/dalhousie/pdf/science/environmental-science-program/ENVS%203502%20projects/2010/AnimalTesting.pdf>

4 Allan Savory, How to green the world's deserts and reverse climate change | Allan Savory, Published on Mar 4, 2013, video, 02.03.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=vpTHi7O66pI>

5 Tyler Stitt, Julie Mountifield, Craig Stephen, Opportunities and obstacles to collecting wildlife disease data for public health purposes: Results of a pilot study on Vancouver Island, British Columbia, Canadian Veterinary Journal, 2007 Jan; 48(1): 83–90., available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716737/#>

from wildlife. The basic precondition for the operational work of such agencies is the widespread sensor network both in ecosystems and on the very animals. Only the data collected in that way have sufficient density, and we can rely on their accuracy to avoid the assumptions of the suspicious accuracy that today dominate this field due to insufficient data, that is, the collection of data only when a phenomenon has already become recognizable.

Remote animal tracking technique is a key technology that provides the gathering of necessary data both in real time and in terms of the historical log, so it can be subjected to Big Data analytics techniques that provide a satisfactory level of predictive accuracy, but can also be used as tools to search back to the source of the infection or find a biological hazard and trigger that has led to the onset of the disease.

The process of protection and legal measures for providing legal, organizational and operational activities for the protection of endangered species

The process of protection of an endangered species begins with its identification and recording, and the assessment of threat for the purpose of making the Red List of Threatened Species. The Red List is an indication of the level of threat of certain species in a given area. These lists are dynamic in nature and are continually updated, that

is, they change according to changes in the field. It is especially important to note that the level of threat increases with the decrease in the natural spread of the species, ie growing in the case of endemic species.

The largest number of endangered species is endemic, ie narrowly localized in the distribution and ecologically stenivalent, and the disappearance of such species can not be compensated from another reserve "genetic source, as is the case with regionally disappearing species that can be reintroduced from of the preserved populations somewhere else.⁶

Unfortunately, in Bosnia and Herzegovina, there are still no Red Lists at the state level. In RS, a list of protected species was adopted in 2012, entitled "Red list of protected species of flora and fauna of the Republic of Srpska" ("Official Gazette of RS" No. 124/12) in which the categories of endangered species of certain species are not given. On the other hand, in 2014, the "Red List of Wild Species and Subspecies of Plants, Animals and Mushrooms" was adopted in the FBiH ("Official Gazette of the Federation of BiH", No. 7/14) in which there is category of threat in addition to each species listed in the document.⁷

Although the Red Lists are documents that should be based on the same internationally accepted methodology, in reality, in BiH there are two completely

6 Tatjana Ratknic, 2017: ENDAGERED PLANT SPECIES IN SERBIA, Centre for ecology and forestry "Sylva", available at: <http://sylva.rs/doc/Ugrozene%20biljne%20vrste%20u%20Srbiji.pdf>

7 Protection of endangered species in BiH, blog biolog.ba, 24.05.2017, available at: <http://biolog.ba/58-zastita-ugrozenih-vrsta-u-bih.html>

different documents and it is completely unclear on which parameters the selection and categorization of species was made.

Due to this, it is difficult to identify the real threat for certain animal species primarily those with a specific large radius of daily and seasonal migrations lies. These animals often migrate from one legal entity to another, so the threat assessment is based on a “double record” and is not adequate to the situation on the ground.

On the other hand, technical and organizational protection measures and operational activities on must have their explanation and legal foundation that should be based on a realistic assessment of the threat or insight into the state of the population on the ground. This requires a technical system that provides a permanent insight or at least insight with sufficient frequency, which is only possible by building a system for remote animal tracking and by organizing the systematic and technical protection of endangered species through a certified legal framework.

So-called Red books are Red Lists for a specific geographical region that are put together- these scientific professional publications list all types of organisms that are subject to protection according to the international classification of the level of threat:

- Critically endangered species;
- Endangered species;

- Vulnerable species;

- Rare species.

Rare and endangered species are protected by law in the way that their habitats are declared as strict nature reserves in which a special regime is governed and in which the activity of humans is minimized. Separation of endangered species and provision of habitats within a closed ecosystem represents the most effective way of protecting the species. However, such legal solutions create specific exclusivity and give special rights to park management as well as to special organizations dealing with species protection. Although the legislator's intention is to provide and support the protection of some endangered species in this way, the facts on the ground show that giving wide and particularly exclusive powers is often the source of corruption and the basis for many illegal and even criminal activities. So it is not unusual for the park management to behave as monopolists, using the natural resources as a source for acquiring material and financial profits through trade and /or poaching of the endangered species that they should protect. Measures of technical protection and, in particular, infrastructure for remote control of endangered species of plants and animals, enables the protection and operational measures for protection of endangered species and nature reserves to become transparent and public, and to introduce adequate control of the

protection of endangered species and habitats as such. The fact that certain park managements oppose this is an indirect indicator that clearly shows that the operations are not carried out in an adequate and legally prescribed

manner. On the other hand, the mentioned infrastructure enables wide popularization and raising awareness of the wider community regarding the need to preserve the natural environment and endangered species in it.

CONSERVATION AND MANAGEMENT OF NATIONAL PARKS

In order to protect endangered species and their habitats today, institutional as well as not institutional measures are applied. Institutional measures are mainly related to the activities of states and governments, while non institutional measures represent all forms of private initiatives to preserve the living world and bio diversity. The United Nations, as an umbrella organization that, among other things deals with the organization of national and international nature conservation initiatives. It has provided a number of recommendations and definitions, as well as standards in the field of conservation of nature and protection of endangered species. The Act on Endangered Species recognizes that fish, wildlife and plants have aesthetic, educational, historical, scientific and recreational values for people and that a person must protect these value, common to all people.⁸

In the past, institutional steps have been taken to protect special nature reserves, within which a number of protected animal species have been provided with protected habitats in such a way that a part of the territory in which that species is inhabited is given

the status of a national park or other nature reserve. Increased demands for the expansion of civilian infrastructure have nevertheless led to increased pressure on these reserves, so there are indirect negative impacts on protected areas. These indirect effects are mostly the consequence of the change in the micro-climate due to changes in the geophysical properties of the adjacent land - the construction of dams and artificial lakes can cause changes in wind blow patterns, change in local humidity and capillary irrigation. The mentioned changes directly affect the ability of an ecosystem to produce food for herbivores and therefore for the predators that feed on them. The construction of thermal power plants or large industrial capacities, a highway or some other main road in the immediate vicinity of the protected reservation has a similar impact. In order to avoid this, there is a legal obligation to develop an impact study. An environmental impact study is often wrong in terms of giving long-term estimates about how the construction of an infrastructure object (civil, utility or energy system) will affect the environment.

⁸ Randall Abate, What Can Animal Law Learn from Environmental Law?, Environmental Law Institute, West Academic, 2015 pp 160, ISBN 978-1-58576-176-0

Also, it should be emphasized that due to global climate change, the ecosystem's ability is further reduced in terms of producing the necessary amount of food for a certain number of animals. This leads to a reduction in the number of animals and their extinction unless a person intervenes in critical periods. The intervention primarily involves feeding starved animals through organized feeding facilities without a direct encounter between the rangers and the wild animals.

In order to be successful this type of temporary feeding must correspond with the habits of animals, with their natural migrations and daily needs. That is why adequate and current information provided by the remote animal tracking system is necessary for rangers and especially veterinarians and biologists. In this regard, it is important to note that the conservation and management of national parks can no longer be isolated attempts of park management and their teams to protect them, but the protection in terms of monitoring the conditions must be extended beyond the sphere of protected areas and work on protection projects must be performed in the wider community.⁹

In terms of nature conservation and conservation of individual isolated

ecosystems such as the national parks, modern ICT technology provide multiple advantages compared to classical methods and techniques. ICT technologies offer the following advantages:¹⁰

- Enable determination of the exact population that settles the habitat within the protected area
- Provide a clear insight into the extent of the territory by individual members and species (one animal's territory, herd territory)
- Show if there are 'surplus' animals that do not have their own territory and which can be transferred to another protected area
- Provide insight into distribution patterns of particular species in a given area, by space and time
- Enable the monitoring and preservation of biodiversity
- Provide quick feedback data

Network infrastructure is the biggest problem with applying new ICT technologies to protected nature reserves. Most ICT technologies are applied in a way that data collection processes are separated from the process of processing and obtaining information, both scientific and operational

9 Fish and Wildlife Service I&M: Connecting Science-driven Monitoring to Management, National Wildlife Refuge System Inventory and Monitoring (I&M) initiative, Published on 4 Aug 2012, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=XutmC7QRGUM>

10 Priya Joshi, Wildlife conservation through innovative technology: Priya Joshi at TEDxKathmandu, TEDx Talks, Published on 10 Jan 2013, video, 24.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=bgM5kHZYrO8>

ones in terms of management and popularization. For the former ones, it is necessary to provide a network and / or internet to protected nature reserves, while the latter ones are processed in separate data centers and / or within a cloud solution. It is clear that the most expensive and technically demanding part is equipping the entire protected area with the necessary infrastructure to provide internet access.

In areas where the degree of protection is lower, this is achieved by using standard wi-fi technology with minimal temporary disturbance of the natural habitat during the installation of the cable infrastructure connecting the end nodes and base stations. In the case of bringing the Internet in the areas with higher level of protection, this is done exclusively by the use of wi-fi technologies where the base stations are placed on the periphery of the protected area. In the case of the rainforest, due to the high density of vegetation, the above solutions would not be sufficiently effective. Therefore it is necessary to cover one part of the rainforest with access points used for network devices installed in the animal collars that are monitored from the air. (AP mounted on

drones, balloons or small airships). The fact that Canada is planning to introduce wi-fi in its national parks and thus enable faster and easier data transfer than that one based on mobile technology proves that the idea of installing and using wi-fi technology gets its supporters.¹¹ Such plans and implemented solutions clearly point to the aim of reducing the operational costs of national parks, while improving and raising the quality of advertising and the provision of distance attendance, for animal lovers and for scientific and educational purposes. It is important to emphasize that without the construction of the appropriate wi-fi network infrastructure there is practically no possibility to apply modern ICT technologies in the field of monitoring and management of nature reserves and protection of endangered species. For adequate data collection, it is necessary to have a network whose transmission latency corresponds to the amount of generated traffic. It is known that IoT devices, especially sensors requiring emulation of continuous monitoring, generate large amounts of data to be transported to the central server on which the data processing will be done and the necessary information will be generated.

IOT FRAMEWORK

One of the important advantages of the wildlife monitoring system in their

natural habitats using IoT technologies is reflected in the greater transparency

11 Wi-Fi in the woods: Canada plans to install web hotspots across its national parks and historic sites, Daily Mail, 29 April 2014, On Line izdanje, 24.12.2016, available at: <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2616007/Wi-Fi-woods-Canada-plans-install-web-hotspots-national-parks-historic-sites.html#ixzz4TmNxjQeH>

of the ecosystem process. In that way we can learn how the ecosystem works and not only focus on the salvation of one endangered species, because such a restricted approach often does not give results. If we turn the monitored animal into a kind of a digital product it will create millions of specific measurements¹², that is, the data needed to create a deeper and better insight into its life, but also the behavior, habits and overall biological needs of the whole species. IoT and BigData solutions allow us to collect and process a large number of data and to create new insights based on it. The best indicator of how advanced this technology is in terms of providing new insights is the fact that it is being increasingly mentioned in scholarly literature.

The reasons why today's development can be described as the Biotelemetry Revolution are:

- Devices are smaller in size and mass, there are a large number of small integrated GPS devices on the market
- Thanks to Cloud technologies, it is possible to collect partial data streams and combine them in order to obtain the most reliable information either in real-time or delayed.

It should be noted that not only does IoT and Big Data provide new scientific insights, but also a new form of resource

management which can be called real-time management based on real information. This kind of management represents a quantitative and qualitative leap from the former management style. Also, the IoT framework is an opportunity to turn ideas into digital products and this raises the question of whether this method can turn a rainforest into a digital product which would be self-sustainable economic model that would protect the rainforest. There is an idea to find new business models to facilitate the operation of protected nature reserves. By converting a national park or protected species into a digital product, it is possible not only to popularize the idea of protection, but it is also possible to obtain additional financial resources to support the work of the nature reserve itself.

ICT helps build both social and infrastructural capacity that is a prerequisite for spreading the awareness of the necessity of protecting endangered animal species, and it does so in the following ways:¹³

- Raising the general level of public awareness of the problems of survival and protection of endangered species
- Provides educational opportunities
- Provides opportunities for professional development of necessary staff to protect endangered species

12 Daniel Smith, 2015 September Webinar IoAHTedited, TheCSAlliance, University of Cambridge, Cambridge Service Alliance, Published on Sep 15, 2015, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=DQew3ESgZoQ>

13 John Houghton, ICT and the environment in developing countries: opportunities and developments, Centre for Strategic Economic Studies, Victoria University, Australia, *October 2009*,

ANIMAL INTERNET

One way of transforming protected animals into a digital product is their popularization through the so-called animal Internet and animal social networks. Animal internet represents the level of services directly derived from the IoT solution while the animal social network can be described as a marketing strategy for applying social networking techniques to popularize protected animal species, creating and strengthening links between younger generation and endangered animals and as a marketing and business platform for commercial business activities and raising funds for the preservation of the mentioned species - contributions to the rangers, the nutrition, the necessary infrastructure, the sale of art objects and souvenirs in order to obtain funds.

Some of the techniques used in the application of ICT technologies in real business related to the conservation of protected species are:

- National Geographic has made a website - aggregator - showing images of all the animals to which cameras are attached, and site users see the same things as animals.

- We can use the infrastructure and triggers in such a way that an animal sends a tweet or a message when it catches a prey (for example, the cat catches the

mouse)¹⁴. In this way, the attention of the audience is maintained, and all “uninteresting frames, that is,” boring “periods when the animal rests and does nothing” are deleted.

- The ability of the user to locate and find an animal at any time and record it (exclusive recording) - thanks to the fact that the necklaces send GPS coordinates,

- Possibility to locate and locate an animal at any time and record it (exclusive recording) - Due to the fact that necklaces send GPS coordinates, the users of the network can position themselves at the same drone coordinates and capture an exclusive recording which is additionally charged.

- Possibility of interactive transmission of wolves or lynx hunting (also using multiple drones allowing interactive transmission)

Also, if the visitors of the national park find themselves in direct contact with large predators, there is the possibility of timely remote notification of the danger. About the possibility of using the Internet as an interface for connecting different biological species, one of the Internet designers Vint Cerf made the following statement: “When the internet was designed, we thought it was a system that connects computers, and it turned out to be the system that

14 Dr Genevieve Bell, The Internet of Beings: Or, What are the Animals Telling Us?, Research Computing Centre, Published on Aug 9, 2016, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=iEosTaPyxOs>

15 Vint Cerf, The interspecies Internet? An idea in progress..., TED, Published on Jul 10, 2013, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=wGMLhaa98GI>

connects people, what we now see is that we should not restrict the network to existing types of connections, but other intelligent types should use the network as well.¹⁵ As more and more tourists are visiting national parks, the likelihood of a casual encounter between tourists and animals within the park increases. More importantly, wild animals in the natural environment often suffer from illnesses that can be transmitted to humans, so it is of great importance to treat the injuries and illnesses of wild animals so they wouldn't spread beyond the boundaries of the national park. Because of this it is crucially important to find

diseased animals as quickly as possible with the non-invasive method and cure them. In such situations it is particularly important to quickly and easily locate the animal and its movement, which is greatly facilitated by the use of GPS modems and wi-fi devices embedded in necklaces and / or bracelets attached to animals (Project Code: 1810, 2017)¹⁶ In this way, a clear insight into the movement of animals is achieved and animals leaving the protected areas and attacking farmers' livestock can be traced. Therefore, it is possible to locate the attackers, to identify their habits and to compensate the damage to farmers.

ELEMENTS OF THE SYSTEM

REPETITORS AND AP

Remote monitoring of animals was earlier done by using technologies based on emission techniques in the area of publicly available frequencies and radio devices. This technology is reliable, but rather obsolete because devices are bulky, and a relatively large amount of energy is required to power them. Also, one of the disadvantages of the mentioned technology is that for monitoring purposes it is necessary to build a number of stationary transmitters that are massive and they must be placed on the antenna poles that are at a mutual distance in proportion to the half of the wavelength EMS they use. This technical

requirement often limited the use of radio waves devices in specially protected ecosystems such as rainforests, because placing them in a protected ecosystem would essentially disrupt them which was not allowed by the laws on nature conservation. Due to the massiveness of the transmitter antennas, it was not possible to put them in the air so this was an additional disadvantage in terms of adequate monitoring of wild animals. The emergence of new ICT technologies, primarily wifi technology and then mobile Internet technology has made it possible to overcome these shortcomings, and to make the appropriate non-

16 GPS based Wildlife animal tracking system, Microtronics Technologies, blog, 24.02.2017, available at: <http://www.projectsof8051.com/gps-based-wildlife-animal-tracking-system/>

17 Project Loon : Now Google launches BALLOONS in bid to bring internet to the remotest places on Earth, PatrynWorldLatestNew, Published on Jun 15, 2013, video, 24.02.2017, available at: https://www.youtube.com/watch?v=_0iqX9Lq5B8

invasive infrastructure necessary to track wildlife movements. As protected national parks and other nature reserves are located far from urban areas, there are many technical, organizational and economic constraints on the use of ICT technologies, especially in environments such as the jungle. It is difficult to achieve an economically viable Internet infrastructure in remote and inaccessible regions. Google's project Loon secures reliable internet access at high speeds and bandwidths in remote and rural areas in an economically viable way.¹⁷ The project uses high-altitude balloons as repeaters or WiFi AP devices placed in the stratosphere to create an aerial wireless network and it has shown a high level of reliability. The repetitor set up so highly allows people and animals to have a signal where they have not previously had it and to connect to the Internet

immediately after major disasters. By using LTE technology and balloons, the speed of 15 MB / s and 40 MB / s can be achieved, depending on the operating range and characteristics of the client's WiFi wifi device.¹⁸ For large areas and wider protected areas Wi-Fi technology becomes inadequate and it has to be replaced with GPS and GSM technology to keep track of animals in the wider area. If the number of transmitters increases in terms of increasing the density, the density of the network used for positioning also increases. For exact spatial positioning, the tag being tracked has to be accessible or connected to at least three APs. Another advantage of wi-fi technology is that the AP can also be positioned in the air, or placed on the drones and / or balloons above the area that should not be disturbed by placing infrastructure elements.

COLLARS

Another important element of the wildlife monitoring system in their natural environment is the passive tag, that is, the necklace containing the wi-fi device recently integrated with the sensors to monitor the physiology and metabolism of the animal. Larger animals, especially predators, such as lions, bears, lynxes or wolves with ease wear these collars easily and they do not hinder the normal performance of all daily activities. Due to the weight limit, when it comes to birds, this tag

is most often a ring placed on a leg in the form of a passive antenna, enabling tracking of the animal's location, but not the monitoring of some other life functions. All monitoring systems based on placing necklaces or other active markers / sensors on animals have one drawback. They rely on batteries as an energy source, so the necklaces, or batteries, must be changed from time to time in order for the device to work. This problem could be solved by using low power consumption sensors and

18 Inside Google's wildly ambitious internet balloon project, The Verge, Published on Mar 2, 2015, video, 24.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=OFGW2sZsUiQ>

modems but even in that case battery consumption is a problem.

For some larger birds, predominantly vultures, it is possible to use a collar with a limited number of sensors while GPS modem is used for locating them. The accuracy of monitoring with this type of collar is defined at a resolution of 500 meters if the base stations are used for goniometry, while it is significantly increased if the goniometry is performed with the moving object (drones for active goniometry) and can be reduced to below 10 meters.¹⁹ The 3D position is usually obtained by interpolation between measuring points obtained by direct measurement.²⁰ This is due to the fact that most land animals fairly move in the vertical plane - rare, mostly periodic seasonal migrations.

Tracking devices (collars) can be sorted according to the following characteristics:

- The type of device and technology used
- Energy budget and operating autonomy
- Device size
- Number of sensors integrated in the device and their accuracy
- Data rate and network throughput

- Adaptability of the device to animal behavior

- Attaching method and location

Modern tracking systems must support 2D and 3D modes of wildlife monitoring. The 3D monitoring mode is especially interesting for birds, fish, large mammals living in the sea or lake waters, animals living in tree canopy, animals with periodic migration from north to south, or vertical migrations to more and lower regions.

Some of the areas where collar technology is applied today are:²¹

- Identification of an individual animal in a group
- Tracking the animal and its movement, as well as social behavior
- Monitoring of animal health
- Communication between animals and humans and between animals and things (eg feeder, water troughs, etc.)
- Behavior regulatory mechanisms (various types of speakers that are carried on the collar and can be remotely activated whenever an animal enters forbidden area)

Since the autonomy of the device depends on the number of logs that the device will send to a server in the unit of

19 M.K.Nor, M.S. Masbop, Smart Livestock Tracker, The International Journal of Engineering And Science (IJES), 2015, Volume 4, Issue 7, PP 25-29, ISBN (e): 2319-1813, ISSN (p): 2319-1805

20 Dr Robert Sinkovits: Improving Wildlife Tracking via HPC, Research Computing Centre, Published on 7 Dec 2015, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=uubLZwluEjU>

21 Lena M Holmberg, Internet of Animals, 05.07.2016, blog, 03.03.2017, available at: <http://lenamholmberg.blogspot.ba/2016/05/internet-of-animals.html>

time, an acceptable flow time is required for each type of monitored animal. This flow time depends on the species and gender, but also the lifestyle and behavior of the individual. For example, tagged fish can be tracked for up to two years after setting up a tracking devices. The energy budget must enable at least half of the annual cycle - the collars must not be changed during the mating season due to the aggressiveness of the

males. Also, cubs must not be equipped with collars until they reach full maturity due to intense growth. Once the battery dies the whole collar should be changed because it has to stay impermeable so that the sensor system and antenna can work. Most collars are made in so-called vandal proof housings in a part related to antenna, power supply and sensor storage (IP67 standard).

DRONES

The problem of covering the territory, namely, monitoring the population with a minimum number of static and dynamic sensor systems is resolved by an optimal combination of static devices and dynamically robotized autonomous systems (often called drones) for data collection. The optimum number of drones for the highly popular digital web platform, that is, the extremely popular social group of animals, can be estimated at about half of the population, meaning that one dron can adequately monitor more members of species, especially those species that gather in packs and herds.

A large number of drones in such scenarios are used for individual monitoring of single males, who may be expected to attack dominant males and attempt to secure their position and entitlement to females. In this way not too much time is spent on unattractive content when animals rest and do nothing that would keep the audience particularly entertained. In addition to

being used for monitoring, recording and controlling individual animals, drones are also used in national parks to control the periphery, prevent curls and/or cutting of forest in a protected area. In this way, drones become an essential tool for improving the work of the ranger service, but also for controlling their work, as they enable the global insight of the public into events and possible illegal activities within national parks. Drones are also used to collect data on distributed systems such as flocks of fish or mosquitos or other flying insects and birds. The use of autonomous robots allows a much wider image than the static devices because, besides the geometric data (position, distribution, trajectory), it also provides a number of semantic information such as the number of defective fruits (apples) on the tree.²²

The first task of automated robotic systems for the monitoring of wild animals in nature is to find or, to detect the signal from the necklace, ie, the

tag. This task in terms of dispersedly distributed systems such as flocks or bird flies can be performed with automatic search algorithms: a drone travels over some surface and searches for the signals which then are processed (counts, collects data after initiating communication, etc.), then it sends to some cloud location where business logic and mapping software, that gives GIS data through a map of a terrain are located.

Covering the territory with autonomous robots is done using the following search techniques:

- Stationary coverage search model
- Stochastic model - the random movement of the drones that collect data
- Contradictory - cross-collecting data with the following two game theory models:
 - o Active avoidance of the meeting
 - o Avoidance game (cat and mouse game)

LiDAR cameras are often used as active devices for capturing the state of the drones. Their resolution is large enough to map all recorded elements of the ecosystem, giving real 3D views

of the current state of the system, that is, allowing real movement through the elements of the system in all directions. The advantages of using drones in terms of protecting national parks, as well as insights into the life and behavior of wild animals compared to other technologies are reflected in:²³

- Cheap technology (compared to airplanes, and a large on-site patrol service)
- Easy to use
- Available for use (standard technology that is rapidly evolving)
- Multifunctional platform - can be used for tracking animals, collecting data from collars and sensors attached to animals, capturing nature and animals in nature, tracking people (tourists, lost people, searching for and preventing the activity of hunters and those who try illegal logging), early detection and localization of the fire, notification of the closest patrol of the rangers, supporting field operations, support for quick responses

Additional advantages of using drones can be counted as follows:²⁴

- Easy location of fairly hard-to-spot animals (Orangutans, Gorillas,

22 Ibrahim Volkan Isler, Associate Professor, University of Minnesota, RI Seminar: Ibrahim Volkan Isler: Robotic Data Gathering in the Wild, November 04, 2016, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=tcTUv0wW7J8>

23 Wildlife conservation with the help of drones: Kitso Epema at TEDxUtrecht, TEDx Talks, Published on 28 Apr 2014, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=LT9q6kra9Oc>

24 Using drones to conserve natural habitats | Professor Serge Wich | TEDxLiverpool, TEDx Talks, Published on 20 Aug 2014, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=GTsMi43Mugo>

Chimpanzees in tropical forests) - thanks to drones it is easy to detect and track migrations

- Ai technologies (automatic optical recognition) increase the probability of recognizing settlement in tree canopies

- Drones can be used in the “data mule” scenario, where they collect data from sensors and cameras (static) to free memory for future work, emptying data loggers. Due to the low flying potential, communication is possible in the near field, so less energy is used for communication and there is the possibility of uploading large files (HD cameras)

- Compared to conventional manual animal data collection, drones are up to 200 times more effective than humans (it takes about 20 minutes for drone to locate animals and collect data from monitoring devices while biologists and the rangers need up to 3 days for the same task (using hunting tracking techniques))

- Drones can fly low enough and give images of large resolutions, as well as record in infrared

- They can be made as DIY project

- Due to the high cost-savings based on their high efficiency, it is possible to reallocate budget resources and purchase additional equipment (other types of hardware and software that can be used on drone platforms)

Legal restrictions on the use of automatic robotic systems and handheld

drones

Although drones are perhaps the most efficient platforms for monitoring the lives of wildlife in their natural environment and therefore extremely interesting technical solutions, their usage is hampered by the fact that the drones are a new legal area in which there are no clear regulations

and the legislators are late with the legal framework for their use. A particular problem of the use of drones for this purpose is the fact that drones are usually not produced in the countries of use and that for their production there are no clear quality standards that producers and importers should adhere to. Since drones belong to aircraft, in most countries, they are subject to special regulatory commissions and air traffic control (if the flight exceeds a certain threshold defined by local laws) and the flight is carried out beyond the limited airport areas. A special problem is also the fact that drones are most commonly used for aerial scouting with mounted cameras that can be misused for unauthorized surveillance, monitoring and even for the purpose of voyaging, which all falls under special laws that are not extended in most of the countries even to this new legal domain.

Considering legal, moral and other limitations of the use of the drones, we must ask and resolve the following questions:²⁵

- Who regulates the rights to use the

25 Best and worst states when it comes to drone laws, Drone U, Published on 6 Sep 2016, video, 24.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=p7DEAXLXeZY>

aircraft and in what way?

- How to get a drone license? Who issues a license or this area hasn't been regulated yet?

- Who is responsible for the fall of the aircraft? Especially if, with its fall, it causes material damage and / or endangers human lives?

- Are there legal procedures for the maintenance of the aircraft? Are there any certifications and what kind of experts issue them to both aircraft and those who maintain them?

- Should a drone have its own logbook and how it is being kept?

- In the case of a DIY drone, who issues an operating license? How to control the quality of production and whether the safety standards are met?

- How are the drones with instruments in the visible spectrum regulated, regarding the privacy of those that can be covered with recorded material?

- What is the minimum flight altitude - prescribed by the air traffic control agency?

- Does any state authority - the agency you are addressing, have the competencies to answer your questions regarding the regulations governing the use of drones?

What is particularly important to emphasize is the fact that although drones are an ideal platform for application in the field of monitoring wild animals in their natural habitats, certain countries

legally prohibit their use in national parks, for example Mexico.

In some US states, this ban has been expanded due to possible voyeurism and / or drug trafficking across the border, and the use of this technology in border areas can lead to up to 5 years in prison.

Even in cases where certain areas of application of drones are regulated, there is a lawful possibility of a lawsuit, but in that case, one who complains about a breach of privacy must prove that there was an intention to abuse this technology in order to violate the complainant's privacy. Counterargument in such a legal battle is certainly a reference to a reasonable expectation of privacy with regard to modern technologies that have similar possibilities of insight into someone's privacy. This is particularly interesting since the hunters and tourists who have violated some of the rules of the national park (burning fire, throwing garbage, damaging the crop etc) are most often the ones who complain about the violation of privacy, so for the purpose of applying drones as a means of protecting the natural environment for wildlife it is necessary to have the appropriate clear legal regulation to clearly and unambiguously regulate this area.

SERVER INFRASTRUCTURE AND SOFTWARE

The next significant part of the infrastructure is the server and storage infrastructure that can be implemented as a cloud solution, which means that it does not have to be directly connected to the location. The benefits of such performance are primarily reflected in the ability to provide an adequate infrastructure that would, depending on the access rights and capabilities of the client software, give the various interested parties exact information and data they need. Also it would separate obtained data in those that would be used for marketing presentation of animals in order to create a critical mass of the on-line followers and provide funding for a national park or other form of organization in the

protected territory and necessary data for biologists, veterinarians and analysts to make adequate analysis and scientific and expert studies of animal behavior. The hardware infrastructure elements of the data center include: Server, Storage devices, firewall, DRC, or the following virtual infrastructure: VM-web server, VM-RBDMS, VM-image, FTP, VM-AVServer, VM-AppServer, VM-InteroperabilitySystem, VM-ImageSocialNetwork. All of the above hardware and software infrastructure can be implemented as a service that is rented for a certain period, so in this way it is possible to facilitate the financing of animal tracking projects, whether they are of the commercial nature or part of a scientific research.

DATA COLLECTION

The ability to collect and process credible information on various aspects of the environment enables quality control and management, both of natural resources and of external influences that can endanger the environment.²⁶ With good selection of data collection technology we can collect data in a minimally invasive way regarding interference in the ecosystem, so the risks related to environmental security related to data collection can be minimized. Data collection can take

place at two separate levels: at the data level of the animal itself, monitoring and recording data - animal status indicators and and at ecosystem level, monitoring and reporting environmental parameters taken from a wider ecosystem. ICT systems implemented in a proactive way ensure the sustainability and protection of the ecosystem as a whole, and not just of individual biological species. It is also important to note the following facts. Without the use of IoT technology in practice, veterinarians base their

26 Mira Mileusnić Škrtić, Karolina Horvatiničić, Dragutin Vuković, Risks and opportunities for applying new technologies in terms of environmental protection and sustainability - from the aspect of ICT application, , scientific symposium DEVELOPMENT AND ENVIRONMENT - PERSPECTIVE OF SUSTAINABILITY , 2011, available at: https://bib.irb.hr/datoteka/550944.Rizici_i_mogucnosti_primjene_novih_tehnologija.pdf

patient knowledge and their concerns on short consultations with rangers and biologists who have observed unusual behavior of the animal.²⁷ Most of the national parks take care of their animal and protected species in this way, because so far it has been the usual form of animal monitoring and management. Since this is a very unreliable way of monitoring health, the development of integrated cloud based solutions over the collected data is directed towards finding algorithms that would create a matrix of behavior patterns for each individual animal and compare it with the current behavior of the animal, and on the basis of it, determine whether the animal behaves in the limits of the usual behavior or beyond those boundaries. In case of unusual behavior mechanisms for additional monitoring and veterinary team would be included. It is important to state out that for most wild animals, there is no clear reference range for biological indicators because enough measurements, that could be a reliable predictor of future animal behavior and assessment of its health status, have never been performed.²⁸ This circumstance leads to reduced accuracy in prediction of animal behavior, but also the necessity to reach this data as quickly as possible, so besides the classic

BigData model, application of machine learning algorithms and artificial intelligence is very likely. Also, these data collection technologies have great advantages when assessing the load of an isolated ecosystem with the number of members of a certain species. Today forestry farms are most often managed on the basis of data representing the population's estimation of a species.

For example, for predators, it is necessary to estimate the number at least 3 times a year depending on the change of seasons and the period of mating and raising the young. the following data is taken as the methods for assessment: directly collected, indirectly collected, re-capture and counting of animals and estimation of population density based on presumed social behavior of animals using statistical methods.²⁹ In this way, accurate data are often not obtained, and abusive calculations of both large and capital prey are also possible. The population counting and statistical methods in the future will be replaced with systems for direct monitoring of wild animals, which at the same time will become a media platform for spreading awareness about the need to preserve the species. By collecting real-time data from the field, it is possible to make well-

27 Anne Accardi, How the Internet of Things is Impacting Animal Health Part 2: Companion Animals, 11.09.2017, Engage Mobile, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://www.engagemobile.com/how-the-internet-of-things-is-impacting-animal-health-part-2-companion-animals/>

28 Dr Elisabetta Canali, ANIMAL WELFARE ASSESSMENT THROUGH SMARTPHONE APPLICATIONS: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES, [OIEVideo](#), Published on Dec 7, 2016, video, 02.03.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=FK1vcB-G9nk>

29 ESTIMATING WILDLIFE POPULATIONS, FW (ZO) 353, Wildlife Management, 02.03.2017, available at: <https://projects.ncsu.edu/cals/course/fw353/Estimate.htm>

based and informed decisions regarding the maintenance of ecosystems within the limits of biological capabilities and

anticipate adequate scenarios for critical situations.

CONCLUSION

From all of this, it is evident that modern ICT technologies represent not only a technological basis for collecting data for scientific and professional wildlife behavior studies, but also a very useful basis for monitoring and managing real operations within national parks. An implementation of these technologies in order to achieve educational, scientific and commercial goals, and in the long term, allow the additional financing of parks and all

operations related to the protection of animals is a priority in the near future. This is even more important given the fact that the above-mentioned business model based on the business model of the animal internet and endangered species itself involves the provision of financial resources necessary for protection, thereby reducing the burden on the budget and the processes of wildlife protection becoming transparent and self-sustainable.

REFERENCES

1. W. W. Cochran, D. W. Warner, J. R. Tester, V. B. Kuechle, Automatic Radio-Tracking System for Monitoring Animal Movements, Reprinted from BioScience, Vol. 15, No.2, 1965, pp 98-100, dostupno na mreži: https://www.researchgate.net/publication/247840577_Automatic_Radio_Tracking_System_for_Monitoring_Animal_Movements
2. ERIC SCHMITT, 'Natural' Habitats Offer Insights Into Social Behavior of Animals, The New York Times, January 26, 1988, available at: <http://www.nytimes.com/1988/01/26/science/natural-habitats-offer-insights-into-social-behavior-of-animals.html>
3. Jessica Ellis, Mel Hall, Phil Ong, Leif Wege, Natalie Paterson, Chelsea Smith, Animal Testing at Dalhousie University: A brief insight into social, economic, and environmental effects of nonhuman animal testing, Dalhousie University, 2010, available at: <https://www.dal.ca/content/dam/dalhousie/pdf/science/environmental-science-program/ENVS%203502%20projects/2010/AnimalTesting.pdf>
4. Allan Savory, How to green the world's deserts and reverse climate change | Allan Savory, Published on Mar 4, 2013, video, 02.03.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=vpTHi7O66pI>
5. Tyler Stitt, Julie Mountifield, Craig Stephen, Opportunities and obstacles to collecting wildlife disease data for public health purposes: Results of a pilot

- study on Vancouver Island, British Columbia, Canadian Veterinary Journal, 2007 Jan; 48(1): 83–90., available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1716737/#>
6. Tatjana Ratknic, 2017: ENDAGERED PLANT SPECIES IN SERBIA, Centre for ecology and forestry “Sylva”, available at: <http://sylva.rs/doc/Ugrozene%20biljne%20vrste%20u%20Srbiji.pdf>
 7. Protection of endangered species in BiH, blog biolog.ba, 24.05.2017, available at: <http://biolog.ba/58-zastita-ugrozenih-vrsta-u-bih.html>
 8. Randall Abate, What Can Animal Law Learn from Environmental Law?, Environmental Law Institute, West Academic, 2015 pp 160, ISBN 978-1-58576-176-0
 9. Fish and Wildlife Service I&M: Connecting Science-driven Monitoring to Management, National Wildlife Refuge System Inventory and Monitoring (I&M) initiative, Published on 4 Aug 2012, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=XutmC7QRGUM>
 10. Priya Joshi, Wildlife conservation through innovative technology: Priya Joshi at TEDxKathmandu, TEDx Talks, Published on 10 Jan 2013, video, 24.12.2016, available at <https://www.youtube.com/watch?v=bgM5kHZYrO8>
 11. Wi-Fi in the woods: Canada plans to install web hotspots across its national parks and historic sites, Daily Mail, 29 April 2014, On Line izdanje, 24.12.2016, available at: <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2616007/Wi-Fi-woods-Canada-plans-install-web-hotspots-national-parks-historic-sites.html#ixzz4TmNxjQeH>
 12. Daniel Smith, 2015 September Webinar IoAHTedited, [TheCSAlliance](#), University of Cambridge, Cambridge Service Alliance, Published on Sep 15, 2015, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=DQew3ESgZoQ>
 13. John Houghton, ICT and the environment in developing countries: opportunities and developments, Centre for Strategic Economic Studies, Victoria University, Australia, October 2009,
 14. Dr Genevieve Bell, The Internet of Beings: Or, What are the Animals Telling Us?, Research Computing Centre, Published on Aug 9, 2016, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=iEosTaPyxOs>
 15. Vint Cerf, The interspecies Internet? An idea in progress..., TED, Published on Jul 10, 2013, video, 23.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=wGMLhaa98GI>
 16. GPS based Wildlife animal tracking system, Microtronics Technologies, blog, 24.02.2017, dostupno na mreži: <http://www.projectsof8051.com/gps-based-wildlife-animal-tracking-system/>
 17. Project Loon: Now Google launches BALLOONS in bid to bring internet to the

- remotest places on Earth, [PatrynWorldLatestNew](#), Published on Jun 15, 2013, video, 24.02.2017, available at: https://www.youtube.com/watch?v=_0iqX9Lq5B8
18. Inside Google's wildly ambitious internet balloon project, The Verge, Published on Mar 2, 2015, video, 24.02.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=OFGW2sZsUiQ>
 19. M.K.Nor, M.S. Masbop, Smart Livestock Tracker, The International Journal of Engineering And Science (IJES), 2015, Volume 4, Issue 7, PP 25-29, ISBN (e): 2319-1813, ISSN (p): 2319-1805
 20. Dr Robert Sinkovits: Improving Wildlife Tracking via HPC, Research Computing Centre, Published on 7 Dec 2015, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=uubLZwluEjU>
 21. Lena M Holmberg, Internet of Animals, 05.07.2016, blog, 03.03.2017, dostupno na mreži: <http://lenamholmberg.blogspot.ba/2016/05/internet-of-animals.html>
 22. Ibrahim Volkan Isler, Associate Professor, University of Minnesota, RI Seminar: Ibrahim Volkan Isler : Robotic Data Gathering in the Wild, November 04, 2016, video, 23.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=tcTUv0wW7J8>
 23. Wildlife conservation with the help of drones: Kitso Epema at TEDxUtrecht, [TEDx Talks](#), Published on 28 Apr 2014, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=LT9q6kra9Oc>
 24. Using drones to conserve natural habitats | Professor Serge Wich | TEDxLiverpool, TEDx Talks, Published on 20 Aug 2014, video, 23.12.2016, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=GTsMi43Mugo>
 25. Best and worst states when it comes to drone laws, Drone U, Published on 6 Sep 2016, video, 24.12.2016, dostupno na mreži: <https://www.youtube.com/watch?v=p7DEAXLXeZY>
 26. Mira Mileusnić Škrtić, Karolina Horvatiničić, Dragutin Vuković, Risks and opportunities for applying new technologies in terms of environmental protection and sustainability - from the aspect of ICT application, Scientific Symposium DEVELOPMENT AND ENVIRONMENT - PERSPECTIVES OF SUSTAINABILITY, 2011, available at: https://bib.irb.hr/datoteka/550944.Rizici_i_mogucnosti_primjene_novih_tehnologija.pdf
 27. Anne Accardi, How the Internet of Things is Impacting Animal Health Part 2: Companion Animals, 11.09.2017, Engage Mobile, 03.03.2017, available at: <http://www.engagemobile.com/how-the-internet-of-things-is-impacting-animal-health-part-2-companion-animals/>
 28. Dr Elisabetta Canali, ANIMAL WELFARE ASSESSMENT THROUGH SMARTPHONE APPLICATIONS: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES,

OIEVideo, Published on Dec 7, 2016, video, 02.03.2017, available at: <https://www.youtube.com/watch?v=FK1vcB-G9nk>

29. ESTIMATING WILDLIFE POPULATIONS, FW (ZO) 353, Wildlife Management, 02.03.2017, available at: <https://projects.ncsu.edu/cals/course/fw353/Estimate.htm>

Paper received: 18.6.2017.

Paper accepted: 18.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801182J

UDK: 637.512/.513:614.44/.48

Pregledni naučni rad

SPROVOĐENJE MERA DEZINFEKCIJE, DEZINSEKCIJE I DERATIZACIJE U KLANICAMA*

Ljiljana JANKOVIĆ^{1*}, Radislava TEODOROVIĆ¹, Milutin ĐORĐEVIĆ¹,
Marijana VUČINIĆ¹, Katarina NENADOVIĆ¹

1 Dr Ljiljana Janković, vanredni profesor, dr Radislava Teodorović, redovni profesor,
dr Milutin Đorđević, redovni profesor, dr Marijana Vučinić, redovni profesor, dr
Katarina Nenadović, docent, Katedra za zoohigijenu Fakulteta veterinarske medicine
Univerziteta u Beogradu, Srbija

* Korespondentni autor: lili@vet.bg.ac.rs

Kratak sadržaj: Odgovornost svih subjekata u poslovanju hranom je prevencija uslova koji mogu dovesti do razvoja i širenja bolesti prenosivih hranom. Sistem analize opasnosti i kritičnih kontrolnih tačaka *HACCP* (*Hazard Analysis Critical Control Points*) izdvojio se kao najefikasniji standardizovani pristup kojim se smanjuju rizici po bezbednost hrane i preporučen je od strane *FAO* (*Food and Agriculture Organization*) i *WHO* (*World Health Organization*). Dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija (DDD) su samo jedan od preduslovnih programa mera kod primene *HACCP* sistema u prehrambenoj industriji. Realizacijom ovih mera proizvođači su bliži svom krajnjem cilju, a to je bezbedan proizvod visokog kvaliteta. Mere dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije sprovode se kontinuirano i podrazumevaju složene, pažljivo planirane i celovite postupke uništavanja mikroorganizama, insekata i glodara. Ove mere zahtevaju kombinaciju preventivnih i kurativnih mera i moraju se programski sprovesti u cilju postizanja očekivanih efekata. Kompanije koje implementiraju mere DDD-a moraju imati obučene izvođače koji razumeju principe *HACCP*-a i znaju kako primeniti mere DDD na način koji neće predstavljati rizik za krajnjeg potrošača.

Ključne reči: dezinfekcija, dezinsekcija, deratizacija, klanice

UVOD

Pojava bolesti izazvane hranom može trgovinu i turizam i dovesti do ekonomskih gubitaka. Odgovornost uprave svih

* Rad je prezentovan na 22. Godišnjem savjetovanju doktora veterinarske medicine Republike Srpske (BiH) sa međunarodnim učešćem

subjekata u poslovanju hranom je prevencija uslova koji mogu dovesti do razvoja i širenja bolesti prenosivih hranom. Iskustva velikog broja razvijenih zemalja na suzbijanju i prevenciji bolesti prenosivih hranom ukazuje na značaj preventivnog delovanja na opasnosti (hazarde) koji mogu izazvati zdravstvene probleme kod ljudi. Sadašnji obim trgovine hranom nalaže uspostavljanje standardizovanog pristupa bezbednosti hrane u celom svetu, kako bi se moglo proceniti da li neki proizvod nosi sa sobom rizik po zdravlje i izmeriti veličinu tog rizika (Makiya i Rotondaro 2002). Sistem analize opasnosti i kritičnih kontrolnih tačaka HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Points*) se izdvojio kao najefikasniji standardizovani pristup kojim se smanjuju rizici po bezbednost hrane i koji je kao takav prihvaćen od strane FAO (*Food and Agriculture Organization*) i WHO (*World Health Organization*).

Dezinfekcija, deratizacija i dezinsekcija (DDD) su samo jedan od preduslovnih programa jedinstvenog sistema HACCP u prehrambenoj industriji. DDD mere predstavljaju jedinstvenu celinu koja je nastala sa ciljem da se specifičnim merama objedine naponi za zaštitu zdravlja ljudi, životinja i materijalnih dobara. Mere dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije moraju se sprovoditi kontinuirano i podrazumevaju složene, pažljivo planirane i celovite postupke uništavanja mikroorganizama, insekata i glodara. Ove mere zahtevaju kombinaciju preventivnih i kurativnih mera i moraju se programski sprovoditi u cilju postizanja očekivanih efekata. Imajući

u vidu problematiku koja se sreće pri proizvodnji i preradi namirnica, kao i pri njihovom skladištenju, mora se naglasiti da se navedene DDD mere moraju posmatrati u sklopu celokupnog procesa sanitacije, a nikako kao pojedinačne radne operacije. DDD mere su sastavni delovi svake proizvodnje namirnica i zbog toga se moraju integrisati kao preduslovi u svaki HACCP plan. Najbolji način da se postignu svi zacrtani ciljevi vezani za dobijanje zdravstveno ispravne namirnice je da se procesi sanitacije postave kao subprocessi sa sopstvenim kritičnim kontrolnim tačkama i sopstvenim procedurama monitoringa i kontrole (FAO/WHO, 2009). Kompanija koja najčešće kao ugovorni izvoditelj implementira mere DDD-a mora imati osoblje koje razume principe HACCP-a i zna kako primeniti mere DDD bez rizika za krajnjeg potrošača.

Kako bi se obezbedio uspeh svih mera čiji je cilj dobijanje zdravstveno ispravnih namirnica veoma je važno da konstrukcija objekta i opreme ispunjava sve veterinarsko-sanitarne zahteve i građevinsko-tehničke uslove koji su predviđeni propisima.

Tokom sprovođenja obaveznih DDD mera za svaku vrstu objekta i u svakom postupku ugovorni izvoditelj obavezan je da:

1. izvrši pregled površina i prostora,
2. izradi potrebnu dokumentaciju,
3. napravi plan implementacije obaveznih DDD mera sa propisnim sadržajem i
4. izvrši ocenu sprovedenih DDD mera.

PLAN ČIŠĆENJA I SANITARNOG PRANJA I NJEGOVA IMPLEMENTACIJA U KLANICAMA

U fazi planiranja izgradnje klanica obavezno treba razmotriti procese čišćenja i sanitacije koji su integrisani u procesu klanja i rukovanja mesom (Small i sar., 2007a). Uspostavljenim planom mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja osigurava se odgovarajući nivo čistoće svih delova objekta, kao i same opreme za čišćenje. Za svaki objekat pravi se plan sanitarne procedure ponaosob, zavisno od kapaciteta objekta, građevinsko-tehničkih karakteristika i tipa proizvodnje (Vodič za dobru higijensku praksu i primjenu načela HACCP-a u industriji mesa, 2012).

Plan treba redovno i temeljno ostvarivati, po potrebi i dokumentovati, da bi se utvrdila uspešnost i opravdanost sprovedenih postupaka. Površine koje dolaze u kontakt sa hranom treba čistiti više puta dnevno, a ostale zavisno od potrebe. Ukoliko se čisti za vreme rada, neophodno je zaštititi hranu od moguće kontaminacije. Zaposleni moraju voditi računa o ličnoj higijeni.

Higijenski plan treba da sadrži za svaki proizvodni segment i deo opreme detalje o:

- higijenskim zahtevima,
- odgovornim osobama,
- preparatima koji će se upotrebiti,
- procedurama i instrukcijama,
- učestalosti pranja i dezinfekcije i
- monitoringu procedura i korektivnim DDD merama.

Odstranjivanje nečistoća sa površina koje se dezinfikuju predstavlja uslov za uspešnu dezinfekciju i zato predfaze dezinfekcije, mehaničko čišćenje i sanitarno pranje, treba da budu temeljno i savesno sprovedene. Mehaničko čišćenje i sanitarno pranje u klanicama podrazumeva da po završenom procesu proizvodnje sav alat, pribori i površine moraju biti oslobođeni ostataka iz prethodne proizvodnje. Cilj sanitarnog pranja je otklanjanje preostale, bolje reći okom nevidljive nečistoće – organske materije (krvi, masnoće) ili anorganske materije (rđa, kamenac) i time stvaranje boljih uslova za dejstvo dezinfekcionog sredstva. Za uspešno izvođenje sanitarnog pranja, od velike su važnosti temperatura vode, vreme delovanja sredstva za pranje, kao i tvrdoća vode (Walia i sar., 2017). Kontrola pranja se vrši vizuelnim pregledom – adspekcijom tj. zapaženjem zaostalih mehaničkih nečistoća nakon pranja. Da li su predfaze dezinfekcije uspešno izvršene zaključuje se na osnovu kontinuiranog filma vode koji u potpunosti prekriva određenu površinu, tj. kada njen kontinuitet nije nigde prekinut ostacima masti ili belančevina. Samo potpunim postizanjem ovog cilja može se smatrati da je čišćenje i pranje bilo efikasno. Za sanitarno pranje treba koristiti sredstva koja sa vodom deluju na nižim temperaturama jer se time izbegava prekomerno isparavanje, kondenzacija i rast buđi (Veljić i Rajković, 2012).

Postupak mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja sastoji se iz sledećih faza:

1. pripremno čišćenje (četkanje, struganje, brisanje i uklanjanje nečistoće i ostataka hrane uz ispiranje vodom),
2. sanitarno pranje (koristiti surfaktante za poboljšanje svojstva vlaženja površina i sekvestrante za poboljšanje otapanja bilo kakvih preostalih anorganskih nečistoća s površina, kao i za sprečavanje stvaranja kamenca na dodirnim površinama),
3. ispiranje vodom radi uklanjanja deterdženta, razložene nečistoće i preostalih ostataka hrane.

Greške pri sprovođenju i održavanju higijene su:

- neadekvatni postupci tokom rada,
- temperatura vode nije dovoljno visoka (više temperature su efikasnije ali mogu uzrokovati kondenzaciju ili koagulaciju belančevina na površinama što otežava čišćenje),
- tehnike čišćenja ili sredstava nisu

prilagođene uslovima,

- ne postoji plan higijene za specifičan pogon,
- ne postoji nadzor sa kontrolnom listom i
- odgovornost za održavanje higijene nije uspostavljena.

Hemijska sredstva koja se koriste za čišćenje i pranje treba čuvati na obezbeđenom mestu kako ne bi predstavljala opasnost za upotrebljivost hrane i zdravlje ljudi. Opremu za čišćenje čuvati u zasebnoj prostoriji koju treba redovno čistiti, prati i dezinfikovati, da ne bi postala izvor unakrsnog zagađenja. Pojedinu opremu za čišćenje treba koristiti samo u određenim prostorijama, radi sprečavanja širenja kontaminacije. Obeležavanje opreme bojama jedan je od najjednostavnijih načina kojim se obezbeđuje dobra kontrola nad namenom i lokacijom određene opreme. Uspeh čišćenja biće umanjen ukoliko se površine prostorija i opreme ne održavaju u ispravnom stanju, odnosno ako su istrošene, oštećene ili porozne.

DEZINFEKCIJA U KLANICAMA

U klanice se svakodnevno, preko životinja koje dolaze na klanje, kao i preko radnika, potencijalno unosi veliki broj različitih vrsta mikroorganizama. Pojedini tehnološki procesi u proizvodnji u klanicama su koncipirani tako da u pojedinim fazama delimično mogu uticati na eliminaciju i redukciju eventualno prisutnih mikroorganizama

u mesu (visoke i niske temperature, procesi salamurenja, soljenja i dimljenja proizvoda). Međutim i pored toga, neophodno je svakodnevno sprovođenje postupka dezinfekcije u proizvodnom pogonu (Gun i sar., 2003).

Dezinfekcija pribora, opreme, radnih površina i sanitarnih prostorija u svim objektima u kojima se priprema i proizvodi

hrana, mora se sprovoditi svakodnevno (FAO, 1985). Dezinfekciju su obavezni da sprovode korisnici površina, prostorija ili objekata, kao kontinuirani svakodnevni proces. Oprema i površine koje dolaze u dodir sa hranom, nejestivim sporednim proizvodima i otpadom, treba da budu od materijala koji omogućava dezinfekciju. Takođe, važno je i da su površine u zadovoljavajućem stanju, odnosno neoštećene. Površine koje su hrapave, zagrebane ili naprsle, korodirani delovi i teško dostupna mesta (mrtvi uglovi) teško je očistiti i dezinfikovati i na tim mestima se stiču optimalni uslovi za stvaranje i razvoj biofilma. Biofilm formiraju bakterije koje se zadržavaju na čvrstim i vlažnim površinama i na tim mestima formiraju mikrokolonije. Biofilm je zapravo mešavina mikroorganizama, komponenti hrane i egzopolisaharida (EPS), supstanci koje proizvode mikroorganizmi koji su se vezali za čvrste površine (Janković i sar., 2009).

Za dezinfekciju treba koristiti sredstvo koje će u koncentraciji i vremenu ekspozicije preporučene od strane proizvođača uništiti mikroorganizme eventualno prisutne u pogonu. Zahtevi koje mora da ispuni dezinficijens, da bi mogao da se koristi u pogonima za proizvodnju namirnica, su:

- širok spektar delovanja protiv različitih mikroorganizama,
- malo slabljenje dejstva usled prisustva ostataka nečistoće,
- konstantan sastav i
- da nije štetan za materijale na koje se primenjuje.

Hlorni preparati nalaze veliku primenu u mesnoj industriji, ali mogu predstavljati potencijalni rizik za zdravlje potrošača, ukoliko se ne koriste po uputstvima. Hlorni preparati bolje deluju pri nižim pH vrednostima i tada ispoljavaju virucidno, baktericidno i sporocidno dejstvo. Nedostatak hlornih preparata je što organska materija smanjuje njihovu dezinfekcionu moć, dok prisustvo baza neutrališe njihov učinak. Ako se poviši temperatura za 10°C, povećava se efikasnost hlora za 60% – 65%. U slabo baznim sredinama, mikrobiocidno dejstvo hlora se povećava. Optimalni pH sredine za dejstvo hlornih preparata kreće se između 6 i 8 (Walia i sar., 2017; Gosling i sar., 2017).

Kvarternarna amonijumova jedinjenja često se koriste za dezinfekciju u pogonima prehrambene industrije. Ova jedinjenja imaju jako izražena baktericidna svojstva, vrlo slab miris, veliku stabilnost, manje su osetljiva na prisustvo organskih materija od hlornih preparata, ne izazivaju koroziju i slabo su toksična. Kvarternarna amonijumova jedinjenja dobro uništavaju mikrokoke i termorezistentne bakterije, a nešto slabije koliformne bakterije i gram-negativne psihrofile (Walia i sar., 2017).

Sam postupak dezinfekcije sastoji se iz nekoliko faza:

- nanošenje dezinfekcionog rastvora,
- temeljno ispiranje vodom i
- kontrola sprovedene dezinfekcije (mikrobiološko testiranje – korišćenje mikrobioloških testova ili brzih

testova za proveru o efikasnosti postupaka sanitacije).

Najčešći propusti prilikom dezinfekcije su:

- nedovoljno prethodno mehaničko čišćenje i sanitarno pranje (posledica: smanjivanje efekta dezinfekcije),
- upotreba neodgovarajućeg dezinficijensa (posledica: nedovoljna aktivnost dezinficijensa, korozija, diskoloracija),
- neodgovarajuća koncentracija dezinficijensa (posledica: kod visokih koncentracija problem rezidua u namirnicama; kod niskih koncentracije stvaranje rezistencije),
- zaostajanje biofilma koji onemogućava prodiranje i dejstvo dezinficijensa;
- propušteno ili nepotpuno obavljeno

ispiranje dezinficijensa (posledica: rezidue u namirnicama) i

- nekorektan način rada (posledica: neke površine nisu dezinfikovane).

Pravilno sprovođenje dezinfekcije i ispiranje dezinfikovanih površina su integrisani delovi svake operacije i svake faze proizvodnog procesa u klaničnoj industriji i jedan od veoma bitnih elemenata za bezbednost hrane (Radenković i sar., 2015).

Problemi, koji nastaju zbog nestručno sprovedene dezinfekcije leže u nepoznavanju same mere, njenog nestručnog sprovođenja, neadekvatnog obrazovanja radnika neposrednih izvršalaca ovih poslova kao i nepostojanja standarda za procenu uspeha i kontrole dezinfekcije (Janković sar., 2012; Naglić, 2005).

DEZINSEKCIJA U KLANICAMA

Kontrola insekata u klanicama je jedan od suštinskih preduslova za integrisani pristup zdravstvene bezbednosti hrane. Subjekti u proizvodnji hrane odgovorni su za suzbijanje insekata. Projekat, izgradnja, lokacija i veličina objekta u kome se posluje hranom moraju biti takvi da omogućavaju dobru higijensku praksu pri rukovanju hranom, uključujući zaštitu od kontaminacije i ulaska insekata. Insekti koji ulaze u objekte značajan su mogući izvor mikrobiološke i fizičke opasnosti (jajašaca i larve insekata). Keener (2009) navodi podatak da jedna kućna muva može da nosi preko 3.6 miliona bakterija.

Neadekvatno sprovedeni programi kontrole i eradikacije insekata i nepažljivo skladištenje i upotreba insekticida mogu takođe uzrokovati hemijske opasnosti, pa je zato neophodno uspostaviti postupke kojima se takav rizik može svesti na najmanju moguću meru. Uporne pojave insekata ukazuju na ozbiljne higijenske i druge propuste (neodgovarajuće čišćenje i održavanje). Potrebno je osigurati odgovarajuće uslove za privremeno skladištenje, kao i za zbrinjavanje nejestivih nusproizvoda i ostalog otpada.

Uspešna kontrola insekata u klanicama treba da se zasniva na

integrisanom, sveobuhvatnom pristupu koji potencira preventivne mere kroz primenu dobrih higijenskih, sanitarnih ili proizvodnih praksi (Veljić i Rajković, 2012; Bogdanović i Stanković 2011).

Najčešće preventivne mere koje se primenjuju u cilju sprečavanja ulaska insekata u proizvodni objekat su kontrola spoljašnjih prozora, vrata i drugih otvora i njihovo opremanje zaštitnim mrežama trakama ili paravanima. Na ulazima mogu da se postave i svetlosni uređaji za privlačenje i uništavanje insekata ili "Insect-O-cutor"-i, ali treba voditi računa da se ovi uređaji nikad ne postavljaju iznad gotovih proizvoda, pakerica i druge osetljive opreme (postavljaju se u onim delovima proizvodnih objekata koji su manje osvetljeni i bez direktnog jakog svetla).

U cilju kontrole i eradikacije insekata mogu se koristiti sledeće metode:

1. Mehaničke metode, koje podrazumevaju upotrebu:

- lepljivih traka,
- lepljivih klopki za gmižuce insekte (sa samolepljivim papirom, nekim hemijskih jedinjenja ili feromonima),
- gelova,
- inertne prašine (silicijum gel i dijatomejska zemlja koji isušuju insekte).

2. Fizičke metode, u koje spada upotreba:

- insektokutora (za leteće insekte, mora se postaviti dalje od oblasti u kojoj se rukuje sa hranom),
- ultrazvuka i
- niske temperature.

3. Autocidalna kontrola insekata podrazumeva:

- prekidanje reproduktivnog ciklusa oslobađanjem sterilnih mužjaka ili genetski modifikovanih insekata.

4. Bihevioralna kontrola:

- Kontrola ponašanja koja obuhvata primenu hemijskih atraktanata koji privlače insekte u zamku – klopku ili prekidaju i ometaju razvojni ciklus insekata.

Ako sve prethodno navedene metode i mere nisu dale rezultate neophodno je uraditi dezinsekciju klanice upotrebom nekog hemijskog dezinsektivnog sredstva (Vodić za dobru higijensku praksu i primjenu načela HACCP-a u industriji mesa, 2012). Pri sprovođenju dezinsekcije neophodno je primeniti odgovarajuće mere opreza i striktno poštovati uputstva proizvođača. Insekticidi koji se koriste u industriji hrane moraju da budu odobreni za tu svrhu i ne smeju da se primenjuju tokom radnog vremena, odnosno u vreme aktivnih radnih operacija. Tretman hemijskim preparatima se vrši nakon završene radne smene, tokom vikenda ili u drugim prilikama kada je proizvodni objekat zatvoren. Pre upotrebe insekticida, svi proizvodi i sav izložen materijal mora da se pokrije ili ukloni iz oblasti koja se tretira. Mogu se koristiti insekticidi biljnog porekla nikotin, rotenon, permetrin (Veljić i Rajković, 2012).

Korektivne mere je potrebno preduzeti kada se utvrde propusti u postupcima suzbijanja štetnih insekata ili kada

se pojave znaci ili prisutnosti istih, kako bi se osiguralo ponovno uspostavljanje kontrole. Korektivne mere uključuju:

– zbrinjavanje proizvoda koji je kontaminiran,

– utvrđivanje uzroka i načina na koji je moguće sprečiti pojavu slične kontaminacije u budućnosti,

– unaprediti uputstva i obuku soblja.

DERATIZACIJA U KLANICAMA

Deratizacija je veoma izazovan zadatak, a da bi se postigao uspeh, ona zahteva stručnost, dobro poznavanja biologije ciljnih vrsta i pravi izbor mera i postupaka tokom uništavanja glodara u određenoj oblasti. Bez obzira na stepen higijenskih uslova i građevinsko tehnička rešenja, pojedine vrste mišolikih glodara ipak su prisutne u objektima (ili njihovoj neposrednoj blizini) klanične industrije. Kontrola potencijalnih rizika koji mogu da budu prouzrokovani od strane pojedinih vrsta glodara je jedan od važnijih aspekata kontrole bezbednosti proizvodnje u klanicama. Glodari predstavljaju jednu od najvećih opasnosti za bezbednost hrane jer mogu da izazovu kontaminaciju kako sirovine, tako i gotovih proizvoda i da tako doprinesu širenju različitih bolesti koje mogu da ugroze zdravlje potrošača. Ove štetočine mogu da izazovu, pored mikrobiološke, i fizičku ili hemijsku kontaminaciju hrane i da na taj način dodatno ugroze zdravlje ljudi (Janković i sar., 2015; Bogdanović i Stanković, 2011).

U klanicama prisustvo štetnih glodara predstavlja rizik zbog mogućnosti kontaminacije proizvoda, radnog prostora i opreme. Prisustvo štetnih glodara doprinosi gubitku poverenja potrošača u određenu kompaniju ili

proizvod, mogućnost da se kompanija sudski goni i plaćanje velikih obeštećenja u slučaju pojave ozbiljnih zdravstvenih problema kod ljudi (Bogdanović i Stanković, 2011). U svakom segmentu proizvodnog lanca u klaničnoj industriji, neophodan je operativan i efikasan program kontrole štetnih glodara. Subjekti u poslovanju hranom odgovorni su za suzbijanje štetočina i uspostavljaju, sprovode i održavaju trajni postupak.

Da bi suzbijanje štetnih glodara bilo uspešno, samo integrisani pristup tj. zajednička primena preventivnih, mehaničkih, fizičkih i hemijskih mera će dati željene rezultate, dok će svako odstupanje rezultirati stvaranjem povoljnih uslova za zadržavanje i razmnožavanje glodara (Janković i sar., 2013; Krajcar, 2011; 2002).

Deratizacija većih objekata trebalo bi da se sprovodi po planu i programu koji se izrađuje za svaki objekat posebno i zapravo je sistematska deratizacija u malom. U izradi plana i programa potrebno je voditi računa i uvažavati sve specifičnosti objekta (lokacija, građevinske, tehnološke i proizvodne karakteristike) i predvideti pokrivanje merama deratizacije svih površina u objektu, kao i okolinu objekta

(Krajcar, 2011). Zahtevi i mere koji se primenjuju kod suzbijanja štetnih glodara u klanici su:

1. Pregled objekta – da bi se mogao izraditi plan i program deratizacije potrebno je prethodno temeljno pregledati objekat i neposrednu okolinu kako bi se utvrdilo stvarno stanje. Osim traženja tragova prisustva štetnih glodara (aktivne rupe, izmet, tragovi glodanja) registruju se sva kritična mesta koja pogoduju ulaženju i zadržavanju glodara u ili oko objekta. Pregled sprovode izvođači mera deratizacije uz saradnju zaposlenih i korisnika objekta.

2. Građevinske mere – preduzimaju se sa ciljem da se spreči ulazak, zadržavanje, hranjenje i razmnožavanje glodara u ili oko objekta. U građevinske mere ubrajamo:

- pravilnu i kvalitetnu izradu temelja objekata,
- ugradnju vrata s metalnim obrubom,
- ugradnju zaštitnih mreža na prozore,
- ugradnju zaštitnih mreža na ventilacione i ostale otvore,
- ugradnju ispravnih sifona i prepreka u kanalizacijom sistemu itd.

Postupke i mere sprečavanja ulaska glodara u objekat (*RAT-PROOF-SISTEM*) predlaže izvođač deratizacije (pismeno), a sprovodi vlasnik objekta.

3. Higijenske mere – postupci pravovremenog i higijenski ispravnog uklanjanja i deponovanja otpadaka, kako ih glodari ne bi mogli koristiti za hranu, skloništa ili stanište. Ove mere imaju

veliku ulogu u organizovanom suzbijanju, jer smanjuju mogućnost izbora hrane, a time čine izložene zatrovane mamke prihvatljivijim i obratno.

4. Zaposlene treba uputiti u pitanja zdravstvene ispravnosti hrane koja su povezana sa pojavom glodara, naglasiti potrebu poštovanja uputstava kao i ažurnog izveštavanja izvođača o pojavi štetnih glodara i o neefikasnim kontrolnim merama.

Izvođač koji će vršiti suzbijanje glodara treba da ima ovlašćenje za sprovođenje delatnosti izdato od strane nadležnih ministarstva i izvod iz upisnika Sudskog registra za obavljanje delatnosti. Rodenticidi moraju biti odobreni za nameravanu upotrebu, uputstva na etiketi se moraju slediti, uključujući zahteve koji se odnose na uklanjanje hrane ili prekrivanje opreme pre primene navedenih sredstava. Sve opasne hemikalije moraju se skladištiti u skladu sa (Pravilnik o dozvolama za obavljanje delatnosti prometa, odnosno dozvolama za korišćenje naročito opasnih hemikalija "Sl. glasnik RS", br. 94/2010). Iskorenjivanje glodara – ako se radi o manjem broju ili o slučajevima u kojima rodenticidi predstavljaju opasnost od kontaminacije, mogu se, u zavisnosti od toga da li su u objektu prisutni miševi ili pacovi, koristiti lovke (živolovke ili mrtvolovke) i lepak (postavlja se u deratizacione kutije). Ako je brojnost glodara velika preporučuje se sprovođenje deratizacije upotrebom mamaka sa rodenticidima, s tim što je neophodno izraditi tačan plan postavl-

janja kutija sa zatrovanim mamcima. Plan izlaganja i nadzora mora sadržavati skicu objekta sa sledećim podacima:

- pozicijama za izlaganje mamaka i klopki u objektu (proizvodnim pogonima),
- pozicijama za izlaganje mamaka u neposrednom okruženju i
- pozicijama za izlaganje mamaka u kanalizacionom sistemu.

Izlaganje, kontrolu i zanaavljanje mamaca sprovode isključivo edukovani radnici ovlašćenog izvođača. Mamci se ne smeju postavljati u prostorije gde je hrana izložena/neupakovana, a uginule glodare treba uklanjati brzo i na bezbedan način.

U cilju uspešnosti deratizacije potrebno je utvrditi raspored sprovođenja redovnih kontrola. Kontrolna lista pomaže pri osiguravanju provere svih područja, pruža mogućnost evidentiranja pojave glodara, kao i preduzetih mera.

U određenim zadatim vremenskim razmacima potrebno je proveriti:

- moguće puteve ulaska glodara,
- moguće izvore hrane, vode i zaklona za glodare,
- znakove pojave glodara, uključujući

fekalije ili gnezda i

- mamke na kontrolnim tačkama i efikasnost rodenticida.

Najčešće greške u sprovođenju deratizacije se javljaju usled:

- nedovoljnog poznavanja terena koji se pokriva merama deratizacije,
- nedovoljnog pokrivanja celog interesnog terena i preskakanja objekata,
- obrade samo objekata, a ne i pripadajućeg okoline,
- pogrešnog odabira formulacije mamaka i pogrešnog izlaganja mamaca,
- izlaganja nedovoljnih količina mamaka i premalog broja deratizacionih kutija,

Greške tokom sprovođenja deratizacije mogu se ispraviti samo ako za vreme sprovođenja i po završenoj akciji postoji interni i stručni nadzor deratizacije (Krajcar, 2011; Janković i sar., 2013). Tada se većina uočenih grešaka može lako ukloniti još u toku akcije. Sve ostale greške uočene u završnoj analizi uklanjaju se ponavljanjem mera u objektu ili u objektima u kojima su uočeni propusti.

ZAKLJUČAK

Broj oboljenja ljudi koji se prenose hranom u stalnom je porastu. Stoga se u pogonima u kojima se proizvodi hrana svakodnevno uspostavlja sve više zahteva u cilju postizanja i održavanja higijenskih uslova za dobijanje zdravstveno

bezbednog proizvoda. Sistem analize opasnosti i kritičnih kontrolnih tačaka HACCP se izdvojio kao najefikasniji standardizovani pristup kojima se smanjuju rizici po bezbednosti hrane. Dezinfekcija, deratizacija i dezinsekcija su deo

preuslovnih programa jedinstvenog i moraju se kontinuirano sprovoditi. sistema HACCP u proizvodnji hrane. Ove Ukoliko se ove mere ne sprovode mere podrazumevaju složene i pažljivo programski, umanjuju se njeni očekivani planirane celovite postupke uništavanja efekti, ali i obezvređuje njihov značaj. mikroorganizama, insekata i glodara

LITERATURA

1. Bogdanović V., Stanković B. (2011): *Pest control*. Improving academia-industry links in food safety and quality. Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Serbia, 1-30.
2. Gun H., Yilmaza A., Turker S., Tanlasia A., Yilmaz H. (2003): *Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by Escherichia coli O157:H7 in Istanbul*. J Food Microbiolgy, 84 (3): 339–4.
3. [Gosling RJ](#), [Mawhinney I](#), [Vaughan K](#), [Davies RH](#), [Smith RP](#). (2017): *Efficacy of disinfectants and detergents intended for a pig farm environment where Salmonella is present*. [Veterinary Microbiology](#), 204:46–53.
4. FAO/WHO (2009): Codex Alimentarius - Food hygiene. Basic texts Fourth edition. <http://www.fao.org/docrep/012/a1552e/a1552e00.pdf>
5. FAO/WHO (1993): Codex Alimentarius: Food hazadrd guidelines for application of HACCP system.
6. FAO (1985): Slaughterhouse cleaning and sanitation, <http://www.fao.org/docrep/003/x6557e/X6557E01.htm>
7. FAO., corporate document repository. Meat processing hygiene. <http://www.fao.org/docrep/010/ai407e/AI407E25.htm>
8. Janković Lj., Radenković- Damnjanović B., Teodorović R., Đorđević M., Pintarić Š (2013): *Propusti koji utiču na efikasnost deratizacije*. XXIV savetovanje dezinsekcija, dezinsekcija i deratizacija u zaštiti zdravlja ljudi i životinja sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, 177–189.
9. Janković Lj., Radenković-Damnjanović B., Vučinić M., Teodorović R., Đorđević M. (2009): *Biofilm-opasnost u proizvodnji hrane*. XX Savetovanja dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija u zaštiti zdravlja ljudi i životinja sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, 127–133.
10. Janković Lj., Radenković - Damnjanović B., Teodorović R., Đorđević M., Pintarić Š. (2015). *Deratizacija klanica*. XXVI savetovanje dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija u zaštiti zdravlja ljudi i životinja sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Novi Bečej, 183–190.
11. Janković Lj., Radenković-Damnjanović B., Karabasil N., Mirilović M., Marić S. (2012): *Investigations of influence of disinfection procedures on hygiene in private slaughterhouse*. Veterinarski glasnik, 66: 3–4, 219–231.

12. Keener K. (2009): *A pest control program. Safe food guidelines for small meat and poultry processors.* (FS-22-W): <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/fs/fs-22-w.pdf>
13. Krajcar D. (2011): *Provedba deratizacijskih postupaka – integralni pristup.* Hrvatski časopis za javno zdravstvo, 7: 1–25.
14. Krajcar D. (2002): *Praktična provedba deratizacije.* Zbornik radova DDD Trajne edukacije „Glodavci i ptice“, Korunić d.o.o. Zagreb, 43–53.
15. Naglič T, Hajsig D. (2005): *Dezinfekcija – osnova biosigurnosti.* Praxis veterinaria, 3: 205–14.
16. Makiya IK, Rotondaro RG. (2002): *Integração entre os sistemas GMP /HACCP / ISSO 9000 nas indústrias de alimentos.* Revista Hygiene Alimentarius, 16 (99): 46–50.
17. Pravilnik o dozvolama za obavljanje delatnosti prometa, odnosno dozvolama za korišćenje naročito opasnih hemikalija (“Sl. glasnik RS”, br. 94/2010)
18. Small A., James C., James S., Davies R., Howell M., Hutchison M., Buncic S. (2007a): *Construction, management and cleanliness of red meat abattoir lairages in the UK.* Meat Science, 75: 523–532.
19. Radenković - Damjanović B., Janković Lj., Vučinić Marijana., Đorđević M. (2015): *Rizik primene biocida za životinje i ljude.* XXVI savetovanje dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija u zaštiti zdravlja ljudi i životinja sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, 67–75.
20. Veljić Z., Rajković M. (2012): *Propusti u sprovođenju DDD mera i njihov uticaj na efikasnost HACCP koncepta.* XXIII savetovanje, dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija – jedan svet jedno zdravlje - sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, 189–197.
21. Vodič za dobru higijensku praksu i primjenu načela HACCP-a u industriji mesa. http://www.svijet-kvalitete.com/images/Web2012/Dokumenti/Vodic_
22. [Walia K.](#), [Argüello H.](#), [Lynch H.](#), [Grant J.](#), [Leonard FC.](#), [Lawlor PG.](#), [Gardiner GE.](#), [Duffy G.](#) (2017): *The efficacy of different cleaning and disinfection procedures to reduce Salmonella and Enterobacteriaceae in the lairage environment of a pig abattoir.* International Journal Food Microbiology, 4: 246:64–71.
23. WHO (1989): *Health surveillance and management procedures for food handling personnel: report of WHO Consultation.* Geneva, World Health Organization (WHO) Technical reports serie 785.

Рад примљен: 20.7.2017.

Рад одобрен: 03.5.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801182J

UDK: 637.512/.513:614.44/.48

Review scientific article

APPLICATION OF MEASURES OF DISINFECTION, DISINSECTION AND RODENT CONTROL IN SLAUGHTERHOUSES

Ljiljana JANKOVIĆ^{1*}, Radislava TEODOROVIĆ¹, Milutin ĐORĐEVIĆ¹,
Marijana VUČINIĆ¹, Katarina NENADOVIĆ¹

¹ Dr. Ljiljana Janković Associate Professor, Dr. Radislava Teodorović Full Professor, Dr. Milutin Đorđević Full Professor, Dr. Marijana Vučinić Full Professor, Dr. Katarina Nenadović Assistant Professor, Department Animal hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia.

* Corresponding author: lili@vet.bg.ac.rs

Abstract: The responsibility of all food business operators is the prevention of conditions that can lead to the development and spread of foodborne diseases. Hazard Analysis and Critical Control Points HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) has been identified as the most effective standardized approach that reduces the risks of foodborne diseases and is therefore accepted by FAO (Food and Agriculture Organization) and WHO (World Health Organization). Disinfection, disinsection and deratization (DDD) is just one of the prerequisite programmes in the application of the HACCP system in the food industry. By implementing these measures, manufacturers are closer to their ultimate goal which is a safe product of high quality. Measures of disinfection, disinsection and deratization are carried out continuously and involve complex, carefully planned and complete procedures for destruction of microorganisms, insects and rodents. These measures require a combination of preventive and curative measures and they must be implemented in order to achieve the expected effects. Companies that implement DDD measures must have trained staff who understand the principles of HACCP and know how to apply these measures in a way that will not pose a risk to the end consumer.

Key words: disinfection, disinsection, deratization, slaughterhouse

* The paper was presented at the 22nd Annual Consultation of the Doctors of Veterinary Medicine of the Republic of Srpska (BiH) with international participation

INTRODUCTION

The emergence of foodborne diseases can endanger not only the health of consumers, but also trade and tourism and lead to economic losses. The responsibility of the management of all food business operators is the prevention of conditions that can lead to the development and spread of foodborne diseases. Experiences of a large number of developed countries on the suppression and prevention of foodborne diseases indicate the importance of preventive action on hazards that can cause health problems in humans. The current volume of food trade calls for the establishment of a standardized approach to food safety around the world in order to assess whether a particular product carries the risk to health and to determine the level of that risk (Makiya and Rotondaro 2002). Hazard Analysis and Critical Control Points HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) has been identified as the most effective standardized approach that reduces the risks of foodborne diseases and is therefore accepted by FAO (Food and Agriculture Organization) and WHO (World Health Organization). Disinfection, disinsection and deratization (DDD) are just one of the prerequisite programmes in the application of the HACCP system in the food industry. DDD measures represent a unique entity that was created with the aim to combine efforts to protect the health of people, animals and material goods by specific measures. Disinfection,

disinsection and deratization measures must be carried out continuously and include complex, carefully planned and comprehensive procedures for the destruction of microorganisms, insects and rodents. These measures require a combination of preventive and curative measures and they must be systematically implemented in order to achieve the expected effects. Bearing in mind the problems encountered in the production and processing of foods, as well as in the storage, it must be emphasized that the mentioned DDD measures must be considered as part of the entire sanitation process, and not as individual operations. DDD measures are integral parts of every food production and therefore must be integrated as prerequisites in each HACCP plan. The best way to achieve all the goals set for obtaining healthy food is to set sanitation processes as sub-processes with their own critical control points and their own monitoring and control procedures (FAO / WHO, 2009). A company that most often as a contractor performs DDD measures must have staff who understand the principles of HACCP and knows how to apply DDD measures in a way without any risk to the end consumer.

In order to ensure the success of all measures aimed at obtaining healthy food, it is very important that the construction of the facility and

equipment meets all the veterinary and sanitary requirements and the construction-technical conditions prescribed by the regulations.

During the implementation of mandatory DDD measures for each type of facility and in each procedure, the contractor is obliged to:

1. Inspect the area and space.
2. Create the necessary documentation,
3. Make a plan for the implementation of mandatory DDD measures with proper content and
4. Make an assessment of the performed DDD measures.

PLAN FOR CLEANING AND SANITARY WASHING AND ITS IMPLEMENTATION IN SLAUGHTERHOUSES

In the planning phase of a slaughterhouse construction, it is mandatory to consider cleaning and sanitation processes that are integrated in the process of slaughtering and handling meat (Small et al., 2007a). The established plan of mechanical cleaning and sanitary washing ensures an adequate level of cleanliness of all parts of the building as well as cleaning equipment itself. For each facility a sanitary procedure plan is made individually, depending on the capacity of the building, the technical characteristics and the type of production (Guide to Good Hygiene Practice and the Application of the HACCP Principle in Meat Industry, 2012). The plan should be regularly and fundamentally implemented and documented on demand in order to establish the success and justification of the implemented procedures. If it is cleaned during work, it is necessary to protect the food from possible contamination. Employees must take care of personal hygiene. The hygiene plan should for each production segment and part of the equipment should contain the details of:

- hygienic requirements,
- responsible persons,
- preparations to be used,
- procedures and instructions,
- frequency of washing and disinfection and
- monitoring of procedures and corrective DDD measures.

Removing impurities from disinfecting surfaces is a prerequisite for successful disinfection, and therefore pre-disinfection, mechanical cleaning and sanitary washing should be carried out thoroughly and conscientiously. Mechanical cleaning and sanitary washing in slaughterhouses implies that after the completed production process loose dirt and food particles must be removed from all tools, accessories and surfaces. The goal of sanitation is to remove impurity invisible to the naked eye-organic matter (blood, fat) or inorganic matter (rust, scale) and thereby create better conditions for the disinfectant. For the successful implementation of sanitary washing, the water temperature, operating time of the washing agent, and water hardness are of great importance (Walia et al.,

2017). Washing control is performed by visual inspection - by observing residual mechanical impurities after washing. Whether the pre-disinfection steps have been successfully performed is based on a continuous film of water that completely covers a certain surface, i.e. when its continuity is nowhere broken by residues of grease or protein. Only by fully achieving this goal it can be considered that cleaning and washing was effective. Sanitary agents which react with water at lower temperatures should be used as this prevents excessive evaporation, condensation and growth of the mildew (Veljić and Rajković, 2012).

The mechanical cleaning and sanitation washing process consists of the following phases:

1. preparatory cleaning (brushing, scraping, wiping and removing impurities and food residues with rinsing with water),
2. sanitary washing (using surfactants to improve surface wetting properties and sequesters to improve the dissolution of any residual inorganic impurities from the surface as well as to prevent the formation of scale on the surface)
3. rinsing with water to remove detergent, uncleaned detergent and food residues.

Mistakes in hygiene procedures are:

- inadequate procedures during work,
- the water temperature is not high enough (higher temperatures are more efficient but they can cause condensation or coagulation of proteins on surfaces, which makes cleaning difficult)
- cleaning techniques or tools are not adapted to the conditions,
- there is no hygiene plan for a specific drive,
- there is no
- responsibility for maintaining hygiene has not been established.

Chemicals used for cleaning and washing should be kept in a secure place so that they do not pose a risk to the usability of food and human health. Cleaning equipment should be kept in a separate room, which should be regularly cleaned, monitored and disinfected, so as not to become a source of cross-contamination. Some cleaning equipment should be used only in certain rooms to prevent the spread of contamination. Coloring equipment is one of the simplest ways to ensure good control over the purpose and location of certain equipment. The success of the cleaning will be reduced if the surface of the rooms and equipment is not maintained in the proper condition, or if they are worn, damaged or porous.

DISINFECTION IN SLAUGHTERHOUSES

In slaughterhouses, a large number of different types of microorganisms are introduced through animals brought to slaughter, as well as through workers. Some technological processes in slaughterhouse production are designed in such a way that they can partially influence the elimination and reduction of possibly present microorganisms in the meat (high and low temperatures, salamurian, salting and smoking processes). However, it is necessary to implement the disinfection process in the production plant on a daily basis (Gun et al., 2003).

Disinfection of accessories, equipment, work surfaces and sanitary facilities in all facilities where food is prepared and manufactured must be carried out daily (FAO, 1985). Disinfection should be done as a continuous daily process by those who use surfaces, premises or facilities. Equipment and surfaces that come in contact with food should be made of disinfectant material. Also, it is important that the surfaces are in a satisfactory condition, ie undamaged. Surfaces that are rough, scratched or crushed, corroded parts and hard-to-reach spots (dead corners) are difficult to clean and disinfect, and these places have the optimal conditions for the creation and development of biofilm. Biofilm is formed when microorganisms attached to solid and damp surfaces form microcolonies. Biofilm is actually a mixture of microorganisms, food components, and

exopolysaccharide (EPS) substances produced by microorganisms attached to solid surfaces (Janković et al., 2009). Disinfectants, that will in the concentration and exposure time recommended by the manufacturer destroy the microorganisms possibly present in the plant, should be used. The requirements that must be met by disinfectants to be used in food production facilities are:

- a wide range of actions against various microorganisms,
- slight weakening of the effect due to the presence of impurities,
- constant composition and
- that it is not harmful to the materials to which it is applied.

Chlorinated preparations are found to be highly applicable in the meat industry, but may pose a potential health risk to consumers if they are not used in accordance with the instructions. They work better at lower pH and then exhibit virucidal, bactericidal and sporocidal effects. The lack of chlorine preparations is that organic matter reduces their disinfecting power, while the presence of bases neutralizes their effect. If the temperature is increased by 10°C, the chlorine efficiency increases by 60% -65%. In base-poor environments, the microbiocidal effect of chlorine increases. The optimum pH of the medium for the action of chlorine preparations ranges between 6 and 8 (Walia et al., 2017; Gosling et al., 2017).

Quaternary ammonium compounds are often used for disinfection in the food industry. These compounds have very pronounced bactericidal properties, very low odor, high stability, less susceptible to the presence of organic substances than chlorine preparations, do not cause corrosion and are poorly toxic. Quaternary ammonium compounds destroy micrococcus and thermoresistant bacteria well, and somewhat weaker coliform bacteria and gram-negative psychrophiles (Walia et al., 2017).

The disinfection process consists of several stages:

- application of disinfectant ,
- basic rinsing with water and
- control of the conducted disinfection (microbiological testing – use of microbiological tests or fast tests for checking the effectiveness of sanitation procedures).

The most common failures during disinfection are:

- insufficient previous mechanical cleaning and sanitary washing (consequence: reduction of the effect of disinfection),
- the use of an inappropriate

disinfectant (consequence: insufficient activity of disinfectants, corrosion, discoloration),

- inadequate concentrations of the disinfectant (consequence: in high concentration the residue problem in food; in low concentration the formation of resistance
- biofilm remains which prevent penetration and the effect of the disinfectant;
- missing or incomplete rinsing of the disinfectant (consequence: residue in foods)
- incorrect operation (as a result: some surfaces are not disinfected).

Proper implementation of disinfection and rinsing of disinfected surfaces are constituent parts of each operation and each stage of the production process in the slaughter industry and one of the most important elements for food safety (Radenković et al., 2015). Problems arising from unprofessionally conducted disinfection are caused by the ignorance of the measure, its ineffective implementation, inadequate education of direct performers of these jobs, as well as the lack of standards for assessing the success and control of disinfection (Janković et al., 2012; Naglić, 2005).

DISINSECTION IN SLAUGHTERHOUSES

Insect control in slaughterhouses is one of the essential prerequisites for an integrated approach to health and food safety. The design, construction,

location and size of the food facility must be such as to enable good hygienic practice in handling food including protection against insect contamination

and insect entry points. Insects entering the facilities are a significant source of microbiological and physical hazards (eggs and larvae). Keener (2009) states that a housefly can carry over 3.6 million bacteria. Inadequately implemented insect control and eradication programs, as well as careless storage and use of insecticides can also cause chemical hazards, so it is imperative to establish procedures to minimize such risk. Persistent insect phenomena indicate serious hygiene and other failures (inadequate cleaning and maintenance). It is necessary to ensure adequate conditions for temporary storage and the disposal of inedible by-products and other waste. Successful control of insects in slaughterhouses should be based on an integrated, comprehensive approach that promotes preventive measures through the application of good hygiene, sanitary or production practices (Veljić and Rajković, 2012, Bogdanović and Stanković 2011). The most common preventive measures applied in order to prevent the insect entry into the production facility are : to control the exterior windows, doors and other openings and to equip them with mesh tape or strips. Insect light traps or "Insect-O-cutor" may be installed at the entrances, but it must be ensured that these devices are never placed above finished products, packers and other sensitive equipment (they are placed in those parts of production facilities that are less illuminated and without direct strong light).

In order to control and eradicate insects, the following methods can be used:

1. Mechanical methods, which involve the use of:
 - sticky tape,
 - sticky traps for crawling insect (with self-adhesive paper, some chemical compounds or pheromones),
 - gels,
 - inert dust (silicon gel and diatomaceous earth that dries insects).
2. Physical methods, which include the use of:
 - insectocutors (for flying insects, it must be placed away from the area where it is handled with food),
 - ultrasound and
 - low temperatures.
3. Autocidal control of the insect means:
 - interruption of the reproductive cycle by the release of sterile males or genetically modified insects.
4. Behavioral control:
 - Behavior control involving the use of chemical attractants that attract insects into trap or interrupt and interfere with the development cycle of insects.

If all of the above methods and measures have not been successful it is necessary to do the disinfection of the slaughterhouse using a chemical disinfectant (Good Hygiene Practice Guide and HACCP Meat Industry Approach, 2012). When performing

disinfection, it is necessary to apply the appropriate precautionary measures and strictly respect the manufacturer's instructions. Insecticides used in the food industry must be approved for this purpose and should not be used during working hours or during active work operations. Treatment with chemical preparations is carried out after the end of the work shift, during the weekend or on other occasions when the production facility is closed. Before using insecticides, all products and all exposed material must be covered or removed from the area being treated. Insecticides of plant origin such as nicotine, rotenone,

permethrin (Veljić and Rajković, 2012) can be used. Corrective measures need to be taken when defects in procedures are identified or when the presence of insects is noticed. Corrective measures include:

- disposal of the product that is contaminated,
- determining the causes and ways in which it is possible to prevent the occurrence of similar contamination in the future,
- to improve the instructions and training of staff.

DERATIZATION IN SLAUGHTERHOUSES

Deratization is a very challenging task, and in order to achieve success, it requires expertise, good knowledge the target species biology and the right choice of measures and procedures during the destruction of the rodents in a particular area. Regardless of the degree of hygienic conditions and building technical solutions, certain types of mice are nevertheless present in the facilities (or their immediate vicinity) of the slaughter industry. Control of potential risks that may be caused by certain types of rodents is one of the most important aspects of controlling the safety of production in slaughterhouses. Rodents are one of the greatest dangers for food safety, as they can cause contamination of both raw materials and finished products, and thus contribute to the spread of various diseases that can endanger the health

of consumers. These pests can cause microbiological and physical or chemical contamination of food, and thus further jeopardize human health (Janković et al., 2015; Bogdanović and Stanković, 2011).

In slaughterhouses, the presence of harmful rodents is a risk due to the possibility of contamination of products, work space and equipment. The presence of rodents contributes to the loss of consumers' confidence in a particular company or product, the possibility for the company to be prosecuted and to pay large damages in the event of serious health problems in people (Bogdanović i Stankovic, 2011). An operational and effective program of controlling rodents is necessary in every segment of the production chain. Food business operators are responsible for the control of pests and they have to establish,

implement and maintain a permanent procedure. Rodent suppression can be successful only by using an integrated approach, ie, the joint application of preventive, mechanical, physical and chemical measures will yield the desired results, while any deviation will result in the creation of favorable conditions for the retention and reproduction of rodents (Janković et al., 2013, Krajcar, 2011;)

Deratization of larger facilities should be carried out according to the plan and program that is being developed for each facility separately. When designing a plan, it is necessary to take into account and take into account all the specifics of the object (location, construction, technological and production characteristics) and to provide for the coverage of all the surfaces of the building as well as the environment of the building (Krajcar, 2011). Requests and measures for combating harmful rodents in the slaughterhouse are:

1. Object inspection - in order to create a plan and a program of deratization, it is necessary to thoroughly inspect the object and the immediate environment to determine the actual condition. Apart from looking for traces of rodents (active holes, feces, traces of gnawing), all critical sites that are suitable for entering and retaining rodents in or around the facility should be registered. The survey is conducted by deratization contractors with the cooperation of employees and users of the facility.

2. Construction measures - are

undertaken with the aim of preventing the entry, retention, feeding and reproduction of rodents in or around an object.

The construction measures include:

- proper and high quality foundation of facilities,
- installation of protective nets on ventilation and other openings,
- installation of correct siphons and barriers in the sewerage system, etc.

Procedures and measures to prevent the entrance of the crown in the building (RAT-PROOF-SISTEM) are proposed by the deratization contractor (in written form) and are carried out by the owner of the facility.

3. Hygienic measures - procedures for timely and hygienically correct removal and disposal of waste, so that rodents can not use them for food, shelter or habitat. These measures play a major role in organized suppression, as they reduce the ability to choose food, and thus make the exposed bait boxes more acceptable and vice versa.

4. Employees should be informed about the issue of health safety related to the occurrence of rodents, the need to respect the instructions should be emphasized, as well as the importance of up-to-date reporting of the rodents occurrence and ineffective control measures.

The contractor who will perform the control of rodents should have the authority to carry out activities issued

by the competent ministries and a copy of the register of the Court Register for performing activities. Rodenticides must be approved for intended use, label instructions must be followed, including requirements relating to the removal of food or equipment overlay prior to the application. All hazardous chemicals must be stored in accordance with the Ordinance on permits for the performance of traffic, ie permits for the use of particularly hazardous chemicals "Official Gazette of RS", No. 94/2010) Rodent extermination- If it is a minor number or cases where rodenticides pose a risk of contamination, depending on whether there are mice or rats present in the facility, traps or glue (placed in deratization boxes) can be used. If the number of rodents is high, it is recommended to carry out the deratization using baits with rodenticides, and it is necessary to make a precise plan for placing the boxes with the poisoned bait.

- positions of baits and traps in the facility (production plants),
- positions of traps in the immediate environment
- positioning of traps in the sewer system.

Installation, control and replacement of bait are carried out exclusively by trained workers of the authorized contractor. The bait must not be placed in rooms where the food is exposed / unpacked, and the dead rodents should be removed quickly and safely.

For the purpose of successful pest control, it is necessary to determine the schedule for the implementation of regular controls. The checklist helps to ensure checking of all areas, provides the possibility of recording the appearance of rodents as well as taken measures.

At certain time intervals it is necessary to check:

- possible ways of entering
- possible sources of food, water and shelter for rodents,
- signs of the appearance of rodents, including faeces or nests, and
- baits at checkpoints and rodenticide efficacy.

The most common mistakes in the implementation of pest control are due to:

- insufficient knowledge of the terrain that is covered
- insufficient coverage of the whole field of interest and skipping facilities,
- processing only objects, and not the surrounding environment,
- the wrong choice of the formulation of the bait and the incorrect exposure of the bait,
- exposure of insufficient quantities of bait and a lack of pest control boxes,

Mistakes during the implementation of pest control can be corrected only if during the implementation and after the completed action there is an internal and professional supervision of the

deratization (Krajcar, 2011; Janković et al., 2013). In that case most of the detected errors can be easily removed during the action. All other mistakes

detected in the final analysis are eliminated by repeating measures in the facility or in objects where failures are detected.

CONCLUSION

The number of people suffering from foodborne diseases is constantly increasing. Therefore, in factories where food is produced every day, more and more requirements are established in order to achieve and maintain the hygienic conditions for obtaining a safe product. Hazard Analysis System and Critical Control Points HACCP has been identified as the most effective standardized approach to reducing food safety risks. Disinfection, deratization

and disinsection are part of the prerequisite programs of the unique HACCP system in food production. These measures involve complex and carefully planned comprehensive procedures for the destruction of microorganisms, insects and rodents and must be carried out continuously. If these measures are not implemented programmatically, its expected effects are reduced, and their significance is impaired.

REFERENCES

1. Bogdanović V., Stanković B. (2011): *Pest control*. Improving academia-industry links in food safety and quality. Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Serbia, 1-30.
2. Gun H., Yilmaza A., Turker S., Tanlasia A., Yilmaz H. (2003): *Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by Escherichia coli O157:H7 in Istanbul*. J Food Microbiolgy, 84 (3): 339–4.
3. [Gosling RJ](#), [Mawhinney I](#), [Vaughan K](#), [Davies RH](#), [Smith RP](#). (2017): *Efficacy of disinfectants and detergents intended for a pig farm environment where Salmonella is present*. [Veterinary Microbiology](#), 204:46-53.
4. FAO/WHO (2009): Codex Alimentarius - Food hygiene. Basic texts Fourth edition. <http://www.fao.org/docrep/012/a1552e/a1552e00.pdf>
5. FAO/WHO (1993): Codex Alimentarius: Food hazard guidelines for application of HACCP system.
6. FAO (1985): Slaughterhouse cleaning and sanitation, <http://www.fao.org/docrep/003/x6557e/X6557E01.htm>
7. FAO., corporate document repository. Meat processing hygiene. <http://www.fao.org/docrep/010/ai407e/AI407E25.htm>
8. Janković Lj., Radenković- Damnjanović B., Teodorović R., Đorđević M., Pintarić Š (2013): Failures affecting the efficiency of deratization. XXIV consultation

- on disinfection, disinsection and deratization in the protection of human and animal health with international participation, Collection of papers, 177-189.
9. Janković Lj., Radenković-Damnjanović B., Vučinić M., Teodorović R., Đorđević M. (2009): *Biofilm-hazard in food production*. XX consultation on disinfection, disinsection and deratization in the protection of human and animal health with international participation, Collection of papers, 127-133.
 10. Janković Lj., Radenković - Damnjanović B., Teodorović R., Đorđević M., Pintarić Š. (2015). *Deratization of slaughterhouses* XXVI consultation on disinfection, disinsection and deratization in the protection of human and animal health with international participation Collection of papers, Novi Bečej, 183-190.
 11. Janković Lj., Radenković-Damnjanović B., Karabasil N., Mirilović M., Marić S. (2012): *Investigations of influence of disinfection procedures on hygiene in private slaughterhouse*. Veterinarski glasnik, 66: 3-4, 219-231.
 12. Keener K. (2009): *A pest control program. Safe food guidelines for small meat and poultry processors*. (FS-22-W): <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/fs/fs-22-w.pdf>
 13. Krajcar D. (2011): Implementation of deratization procedures - an integral approach.. Croatian Journal for Public Health,7: 1-25.
 14. Krajcar D. (2002):. Practical implementation of deratization, Collection of papers DDD permanent education „Rodents and birds“, Korunić d.o.o. Zagreb, 43-53.
 15. Naglić T, Hajsig D. (2005): Disinfection - the basis of biosecurity. Praxis veterinaria, 3: 205–14.
 16. Makiya IK, Rotondaro RG. (2002): Integração entre os sistemas GMP /HACCP / ISSO 9000 nas indústrias de alimentos. Revista Hygiene Alimentarius, 16 (99): 46–50.
 17. Rulebook on licenses for performing trade activities, or permits for the use of particularly dangerous chemicals (Official Gazzete of SR , No. 94/2010)
 18. Small A., James C., James S., Davies R., Howell M., Hutchison M., Buncic S. (2007a): *Construction, management and cleanliness of red meat abattoir lairages in the UK*. Meat Science, 75: 523–532.
 19. Radenković - Damnjanović B., Janković Lj., Vučinić Marijana., Đorđević M. (2015): Risk of biocide use for animals and humans. XXVI, consultation on disinfection, disinsection and deratization in the protection of human and animal health with international participation, Collection of papers, 67-75.
 20. Veljić Z., Rajković M. (2012): *Failures in implementing DDD measures and their impact on the effectiveness of the HACCP concept*.. XXIII consultation on disinfection, disinsection and deratization-one world one health- in the protection of human and animal health with international participation, Collection of papers, 189-197.
 21. Guidance for good hygienic practice and application of the HACCP principles

in the meat industry.http://www.svijet-kvalitete.com/images/Web2012/Dokumenti/Vodic_

22. [Walia K.](#), [Argüello H.](#), [Lynch H.](#), [Grant J.](#), [Leonard FC.](#), [Lawlor PG.](#), [Gardiner GE.](#), [Duffy G.](#) (2017): *The efficacy of different cleaning and disinfection procedures to reduce Salmonella and Enterobacteriaceae in the lairage environment of a pig abattoir*. International Journal Food Microbiology, 4: 246:64-71.
23. WHO (1989): Health surveillance and management procedures for food handling personnel: report of WHO Consultation. Geneva, World Health Organization (WHO) Technical reports serie 785.

Paper received: 20.7.2017.

Paper accepted: 03.5.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801207L

UDK: 614.31:641/642

Pregledni naučni rad

METODE ZA ODREĐIVANJE ANTIMIKROBNE REZISTENCIJE KOD MIKROORGANIZAMA U HRANI

Tijana LEDINA^{1*}, Snežana BULAJIĆ¹, Jasna Đorđević¹

¹ Dr Tijana Ledina, asistent, dr Snežana Bulajić, vanredni profesor, dr Jasna Đorđević, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija

* Korensponentni autor: Tijana Ledina, imejl: tijana.ledina@vet.bg.ac.rs

Kratak sadržaj: Rezistencija na antibiotike predstavlja rastući problem koji je Svetska zdravstvena organizacija proglasila jednom od najvećih pretnji za globalno zdravlje ljudi. Lanac hrane jedan je od najvažnijih puteva prenošenja i širenja rezistencije na antibiotike između populacije rezistentnih i populacije osetljivih komensalnih i/ili patogenih mikroorganizama. Rezistencija na antibiotike može biti urođena, ili stečena putem mutacija ili lateralnog transfera gena. Sa aspekta širenja rezistencije značajna je samo rezistencija stečena lateralnim transferom gena. Postoje brojne metode za detekciju i određivanje prirode rezistencije na antibiotike kod bakterija izolovanih iz hrane. Neophodno je da metode budu standardizovane i da obezbeđuju konzistentnost i doslednost dobijenih rezultata. Za detekciju fenotipske rezistencije kod bakterija izolovanih iz hrane koriste se metode kojima se određuje minimalna inhibitorna koncentracija antibiotika. U njih spadaju metod mikrodilucije, metod dilucije u agaru i E-testovi. Kvalitativne i semikvantitativne metode koje se često koriste kod kliničkih izolata, nisu prigodne za ispitivanje rezistencije na antibiotike kod mikroorganizama izolovanih iz hrane. Kod mikroorganizama kod kojih se utvrdi prisustvo fenotipske rezistencije na antibiotike, određuje se prisustvo gena za rezistenciju. Mikroorganizmi kod kojih se dokaže prisustvo genetskih determinanti koje su povezane sa stečenom rezistencijom na antibiotike, predstavljaju rizik za diseminaciju rezistencije i među osetljivom populacijom. Mikroorganizmi koji imaju komercijalnu upotrebu, ne bi trebalo da poseduju genetske determinante prenositelne rezistencije na antibiotike.

Ključne reči: rezistencija na antibiotike, minimalna inhibitorna koncentracija, genetske determinante rezistencije

Zahvalnica: Ovaj pregledni rad je deo projekta br. 46009 i III 46010 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

* Rad je prezentovan na 22. Godišnjem savjetovanju doktora veterinarske medicine Republike Srpske (BiH) sa međunarodnim učešćem

UVOD

Početak antibiotske ere 1940-ih označio je pravu revoluciju u medicini, zahvaljujući kojoj su, do tada smrtonosne bakterijske infekcije postale izlečive. Ubrzo nakon početka lečenja uz pomoć antibiotika, pojavili su se i prvi mikroorganizmi koji su rezistentni na njih. Danas, rezistencija na antibiotike predstavlja jedan od najvećih problema čovečanstva. (*World Health Organization, WHO, 2011*).

U mnogim zemljama godišnja upotreba antibiotika u veterinarskoj medicini višestruko premašuje upotrebu antibiotika u humanoj medicini. Kao posledica metafilakse i profilakse u veterinarskoj medicini, čak i zdrave životinje kontinuirano su izložene velikim količinama antibiotika. Mikroorganizmi koji vode poreklo od životinja na taj su način izloženi selektivnom pritisku, koji dovodi do preživljavanja samo onih bakterija koje su rezistentne na antibiotike. (*WHO, 2011*). Hrana životinjskog porekla omogućava direktan kontakt između mikroflore digestivnog trakta ljudi i životinja i predstavlja jedan od najvažnijih puteva širenja rezistencije između populacija ljudi i životinja. Sa aspekta bezbednosti hrane, nisu značajni samo rezistentni patogeni mikroorganizmi, već i komensalni mikroorganizmi koji mogu da služe kao rezervoar gena rezistencije na antibiotike. (*European Food Safety Authority EFSA, 2008a*). Proizvodi dobijeni od sirovog mesa i mleka posebno su inkriminirani zahvaljujući izostanku

termičkog tretmana, čime je omogućen opstanak velikog broja mikroorganizama u njima (*Mathur and Singh, 2005*).

Rezistencija na antibiotike može biti urođena ili stečena. Urođena rezistencija predstavlja naslednu odliku vrste ili roda i nema značajnu ulogu u diseminaciji rezistencije među populacijama mikroorganizama. Stečena rezistencija na antibiotike specifična je samo za pojedine sojeve u okviru inače osetljive vrste ili roda i može nastati usled mutacija na postojećim genima ili usled sticanja novih gena putem lateralnog transfera (*Ammor i sar., 2007*). Urođena rezistencija i rezistencija na antibiotike koja je nastala kao posledica mutacija nisu od značaja kod nepatogenih vrsta mikroorganizama, jer nemaju ulogu u širenju rezistencije. Rezistencija stečena lateralnim transferom gena nosi najveći rizik za širenje genetskih determinanti rezistencije na osetljive mikroorganizme (*Devirgiliis i sar. 2011*).

Praćenje rezistencije kod patogenih i komensalnih mikroorganizama kroz lanac hrane je od izuzetnog značaja za razumevanje i predviđanje nastanka i širenja, kao i planiranja adekvatnih mera u sprečavanju dalje diseminacije rezistencije na antibiotike. U cilju uspešnog monitoringa rezistencije kod bakterija izolovanih iz hrane, određivanja njene prirode i procene mogućnosti prenosa na osetljive bakterije, neophodno je primenjivanje odgovarajućih metoda ispitivanja rezistencije na antibiotike.

METODE ZA ISPITIVANJE REZISTENCIJE NA ANTIBIOTIKE

Pri ispitivanju prisustva rezistencije kod mikroorganizama izolovanih iz hrane, koriste se fenotipske i genotipske metode. Prvo se utvrđuje fenotipska rezistencija i to uz pomoć neke od kvalitativnih ili kvantitativnih metoda. Ukoliko se kod izolata dokaže prisustvo fenotipske rezistencije za koju postoji sumnja da je posledica lateralnog transfera gena, potrebno je utvrditi prisustvo gena koji kodiraju rezistenciju.

Kvalitativne metode detekcije rezistencije na antibiotike

Disk-difuziona metoda predstavlja najčešće korišćenu kvalitativnu metodu za određivanje rezistencije kod mikroorganizama. Disk-difuziona metoda za ispitivanje rezistencije na antibiotike izvodi se tako što se na površinu Petri ploča sa odgovarajućom hranljivom podlogom nanosi inokulum koji sadrži približno $1-2 \times 10^8$ log CFU/mL ispitujućeg mikroorganizma, a zatim se na nju stavljaju papirni diskovi koji su impregnirani fiksnom koncentracijom antibiotika. Rezultati se očitavaju posle 16–24h, merenjem zone inhibicije rasta ispitivanog mikroorganizma (Jorgensen and Ferraro, 2009). Iako je disk-difuziona metoda najčešće korišćena kod kliničkih izolata, jer je jeftina, jednostavna i dobro standardizovana, ona nije pogodna za određivanje rezistencije kod mikroorganizama izolovanih iz hrane, jer ne postoji mogućnost kvantifikacije rezultata, već se izolati na osnovu veličine zona inhibicije mogu da klasifikuju samo

kao osetljivi ili rezistentni (EFSA, 2012).

Kvantitativne metode za određivanje minimalnih inhibitornih koncentracija antibiotika

Za ispitivanje rezistencije kod bakterija izolovanih iz hrane, preporučuju se kvantitativne metode koje se baziraju na određivanju minimalnih inhibitornih koncentracija antibiotika (Minimal Inhibitory Concentration – MIC) (EFSA, 2008a; EFSA, 2007; EFSA, 2012). Minimalna inhibitorna koncentracija predstavlja najnižu koncentraciju antibiotika koja ima mogućnost da inhibira rast mikroorganizma pri tačno definisanim uslovima (Wiegand i sar., 2008). Postoji više metoda za određivanje MIC vrednosti, poput metoda dilucije u agaru, metoda dilucije u bujonu, upotreba E-testova i u novije vreme automatizovanih instrumentalnih sistema (Jorgensen and Ferraro, 2009).

Kod metode dilucije u agaru, određena koncentracija antibiotika dodaje se direktno u agar, a zatim se na njegovu površinu zasejava ispitivani mikroorganizam. Rezultati se očitavaju na osnovu prisustva ili odsustva rasta mikroorganizma na površini agara posle završene inkubacije (Wiegand i sar., 2008). Kod metoda dilucije u bujonu koriste se tečne podloge sa dodatkom antibiotika u tačno određenoj koncentraciji za određivanje prisustva rezistencije. Metod makrodilucije se izvodi u epruvetama, a zapremine bujona u koga su dodati ispitujući

mikroorganizam i antibiotik treba da budu veće od 2 mL. Makrodiluciona metoda prva je metoda koja je razvijena za određivanje MIC vrednosti, ali se danas praktično više uopšte ne koristi, jer je zahtevnija i skuplja od mikrodilucione metode (*Jorgensen and Ferraro, 2009*).

Mikrodiluciona metoda za određivanje MIC vrednosti podrazumeva upotrebu mikrotitracionih ploča, pri čemu ukupna zapremina u bunarčiću ploče ne prelazi zapreminu od 500 μ L (*Wiegand i sar., 2008*). Standardne mikrotitracione ploče imaju veličinu 8×12 bunarčića, pa se na jednoj ploči može ispitivati 8 antibiotika u 12 koncentracija, ili 12 antibiotika u 8 koncentracija. Koncentracije antibiotika koje se nalaze u epruveti ili mikrotitracionoj ploči su obično u nizu dvostrukih razređenja (npr 1, 2, 4, 8 itd μ g antibiotika/mL podloge). Mikrodilucione ploče mogu da se prave direktno u laboratoriji koja ispituje rezistenciju na antibiotike, ali su dostupne i komercijalne ploče u čijim se bunarčićima nalazi dehidrirani antibiotik u odgovarajućim koncentracijama. Koncentracije antibiotika koje se unose u bunarčiće mikrotitracionih ploča propisane su standardom ili odgovarajućim vodičem (*Jorgensen and Ferraro, 2009*).

Rezultati kod makrodilucione metode se tumače na osnovu замуćenja bujona, a kod mikrodilucione metode na osnovu prisustva ili odsustva sedimenta u mikrotitracionom bunarčiću. Najmanja koncentracija antibiotika pri kojoj nema vidljivog замуćenja, odnosno stvaranja

taloga, predstavlja MIC vrednost za ispitivani izolat (*Jorgensen and Ferraro, 2009*).

E-testovi predstavljaju tanke plastične trake na čijoj je poleđini antibiotik nanesen u rastućim koncentracijama. Na gornjem delu trake, nalazi se skala sa brojevima koji označavaju koncentracije antibiotika. E-testovi stavljaju se na površinu odgovarajućeg agara koji je prethodno inokulisan ispitujućim mikroorganizmom. MIC vrednosti sa E-testa očitavaju se na mestu preseka trake sa zonom inhibicije rasta. E-testovi su jednostavni i laki za izvođenje, ali se još uvek ne koriste u rutinskom ispitivanju izolata iz hrane, jer je cena ovakvih ispitivanja veoma visoka (*Jorgensen and Ferraro, 2009*).

U novije vreme razvijene su poluautomatizovane i automatizovane metode za determinaciju MIC vrednosti, poput MicroScan WalkAway (Siemens Healthcare Diagnostics), BD Phoenix Automated Microbiology Diagnostics (BD Diagnostics), Vitek 2 System (bioMérieux) i Sensititre Aris 2X (Trek Diagnostic Systems). Automatizovane metode omogućuju brzo dobijanje i standardizovano očitavanje rezultata, ali njihova upotreba je još uvek ograničena na kliničke izolate (*Jorgensen and Ferraro, 2009*).

Specifičnosti ispitivanja rezistencije na antibiotike kod mikroorganizama izolovanih iz hrane

Mikroorganizmi izolovani iz hrane razlikuju se od kliničkih izolata, pa

metode praćenja rezistencije kod njih imaju svoje specifičnosti i razlikuju se od metoda koje se primenjuju u kliničkoj praksi.

Određivanje rezistencije kod nekog soja mikroorganizma izolovanog iz hrane zasniva se na mikrobiološkim (epidemiološkim) graničnim vrednostima MIC, za razliku od kliničkih izolata kod kojih se određivanje rezistencije zasniva na kliničkim graničnim vrednostima (EFSA, 2008a). Mikrobiološke granične vrednosti postavljaju se u odnosu na distribuciju MIC vrednosti u populaciji bakterija, a sojevi čije MIC vrednosti značajno odstupaju od distribucije MIC vrednosti unutar date vrste ili roda, označavaju se kao mikrobiološki rezistentni. Mikroorganizmi koji su mikrobiološki osetljivi nisu nosioci gena koji kodiraju stečenu rezistenciju, bilo da je ona posledica mutacije ili je nastala lateralnim transferom gena.

Za razliku od mikrobioloških graničnih vrednosti, kliničke granične vrednosti imaju za cilj da se ispituju mogućnosti lečenja bakterijske infekcije uz pomoć nekog antibiotika, pri čemu se uzimaju u obzir i kliničke studije efikasnosti, doziranje antibiotika, njegova farmakodinamika i farmakokinetika. Kliničke i mikrobiološke granične vrednosti MIC, mogu, ali i ne moraju da budu iste za neki antibiotik. Pri očitavanju rezultata kod mikrobioloških graničnih vrednosti, postoje samo kategorije rezistencije i osetljivosti kod mikroorganizama, ali ne i intermedijerne osetljivosti/rezistencije (Silley, 2012).

Programi monitoringa rezistencije kod bakterija izolovanih iz hrane kao minimalni uslov postavljaju praćenje rezistencije kod rodova *Salmonella* i *Campylobacter* (WHO, 2011). Pored ova dva roda u monitoring su najčešće uključene i *Escherichia coli* kao indikator Gram negativne komensalne mikroflore i *Enterococcus* spp. kao indikator Gram pozitivne komensalne mikroflore (Founou i sar., 2016; WHO 2011). Prema preporukama Evropske agencije za bezbednost hrane (European Food Safety Authority – EFSA) ispitivanje MIC vrednosti kod *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Enterococcus* spp. i *E. coli* treba da se radi prema uputstvima izdatim od strane Evropskog komiteta za ispitivanje antimikrobne osetljivosti (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST, 2017), ali samo kvantitativnim metodama za određivanje vrednosti MIC, jer je disk-difuziona metoda označena kao neadekvatna (EFSA, 2008b; EFSA, 2007). Najčešće korišćena hranljiva podloga koja se koristi pri ispitivanju rezistencije na antibiotike kod mikroorganizama izolovanih iz hrane je Miler-Hinton bujon. Ipak, on nije adekvatan za ispitivanje rezistencije kod kampilobakterija, zbog njihove zahtevnosti u pogledu hranljivih materija, pa se u tom slučaju koristi Miler-Hinton bujon sa modifikovanom koncentracijom katjona i dodatkom 2,5% konjske krvi (McDermott i sar., 2005).

Prema preporukama EFSA, svi mikroorganizmi koji se namerno dodaju u hranu, najčešće kao starter kulture

ili probiotici, ne smeju da budu nosioci genetskih determinanti rezistencije koje su stečene lateralnim transferom gena (EFSA, 2012). S obzirom na to da su u pitanju mikroorganizmi koji nemaju klinički značaj, metode ispitivanja MIC vrednosti nisu predviđene u vodičima EUCAST-a. Naročiti problem kod ispitivanja antimikrobne rezistencije kod bakterija mlečne kiseline predstavljao je odabir adekvatne hranljive podloge za rast bakterija u mikrotitracionim pločama, jer se uobičajeno korišćeni bujoni Miler-Hinton i Iso-Sensitest nisu pokazali kao adekvatni za sve pripadnike ove grupe mikroorganizama (Huys i sar., 2002). Nedavno je izdat ISO standard (ISO 10932, 2010) kojim je definisan način

ispitivanja antimikrobne rezistencije kod bifidobakterija i bakterija mlečne kiseline, osim enterokoka. Medijum koji se koristi za rast mikroorganizama u mikrotitracionim pločama je LSM bujon (Lactic Acid Bacteria Susceptibility Medium – LSM) koji se sastoji od 90% Iso Sensitest bujona sa dodatkom 10% MRS bujona (de Man, Rogosa, Sharpe – MRS). Za ispitivanje rezistencije kod *Bifidobacterium* spp. LSM bujonu dodaje se i cistein (International Standardization Organization ISO 10932, 2010).

U Tabeli 1 prikazani su osnovni skupovi antibiotika na koje treba ispitati rezistenciju kod mikroorganizama izolovanih iz hrane, prema preporukama EFSA.

Tabela 1 – Standardan set antibiotika za ispitivanje rezistencije kod mikroorganizama iz hrane (EFSA 2007; EFSA 2008b; EFSA 2012)

Mikroorganizam	Antibiotici
<i>Salmonella</i> spp, <i>E. Coli</i>	Cefotaksim, nalidiksinska kiselina, ciprofloksacin, ampicilin, tetraciklin, hloramfenikol, gentamicin, streptomycin, trimetoprim, sulfonamidi
<i>Campylobacter jejuni</i> i <i>Campylobacter coli</i>	Eritromicin, ciprofloksacin, tetraciklin, streptomycin, gentamicin
<i>Enterococcus faecalis</i> i <i>Enterococcus faecium</i>	Streptomycin, gentamicin, hloramfenikol, ampicilin, vankomicin, eritromicin, kvinpristin/dalfopristin, tetraciklin, linezolid
Bakterije mlečne kiseline i <i>Bifidobacterium</i> spp.	Ampicilin, vankomicin, gentamicin, kanamicin, streptomycin, eritromicin, klindamicin, tetraciklin i hloramfenikol*

* Уколико се у храну додаје и *Enterococcus faecium* осим предвиђеног skupa antibiotika, треба испитати и резистенцију на тилозин.

Утврђивање prisustva gena за резистенцију на antibiotike

Уколико је MIC вредност за неки сој микроорганизма изнад постављених граничних вредности, неопходно је даље испитивање природе резистенције, како би се утврдило да ли је резистенција урођена или стећена.

Урођена резистенција је специфичност врсте или рода и тачна идентификација таксономске припадности испитиваног soja представља основни предуслов за утврђивање генетске базе резистенције (EFSA, 2008a). Генетска база резистенције утврђује се молекуларно-биолошким методима од којих је најчешће коришћена PCR техника. Претраживањем literature, може се доћи до података који су неопходни за дизајнирање пражмера, података о генима за резистенцију најчешће присутним код испитиваног микроорганизма, као и о њиховој

локализацији и могућностима преноса на друге бактерије. Postoje i baze podataka o genima за резистенцију на antibiotike koje су доступне на интернету, у којима се могу претраживати dosad opisani geni према antibiotiku или врсти и роду микроорганизма, попут ARDB (Antibiotic Resistance Database) базе података (ARDB, 2017).

Iako је PCR најчешће коришћена метода за доказивање gena резистенције, она захтева изолацију бактерија и њихове DNK и зависна је од културелних техника и њихових ограничења при изолацији бактерија, због чега се за испитивање резистенције унапређују и развијају најсавременije, културално независне технике попут метаженомике и секвенционирања целог генома (Founou i sar., 2016). Ove metode omogućuju detekciju i испитивање celokupnog bakterijskog генома, идентификацију нових генетских особина и идентификацију непознатих генетских елемената, што употребом PCR метода nije moguće (Allen, 2014; Thanner, 2016).

ZAKLJUČAK

Veliki značaj praćenja резистенције на antibiotike кроз lanac хране све više се препознаје у целом свету. Programi praćenja резистенције код микроорганизама изолованих из хране konstantно се развијају и унапређују. Stalan napredak у metodama koje

се примењују код izolata из хране neophodan је како би се dobili relevantni rezultati који су потребни да се резистенција на antibiotike предвиди, prati и како би се на време primenile мере у sprečavanju njenog širenja.

ЛИТЕРАТУРА

1. Allen H. K. (2014). *Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals*. Current Opinion in Microbiology, 19(1), 25–29.
2. Ammor M. S., Flórez A. B., Van Hoek A. H. A. M., De Los Reyes-Gavilán C. G., Aarts H. J. M., Margolles A., Mayo B. (2007). *Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria*. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 14(1–3), 6–15.
3. Antibiotic resistance database ARDB (2017) <https://ardb.cbcb.umd.edu/>
4. Devirgiliis C., Barile S., Perozzi G. (2011). *Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota*. Genes and Nutrition, 6(3), 275–284.
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing EUCAST (2017) http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.0_Breakpoint_Tables.pdf
6. European Food Safety Authority EFSA (2008a). *Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance*. The EFSA Journal, 732(May 2005), 1–15.
7. European Food Safety Authority EFSA (2008b). *Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal Escherichia coli and Enterococcus spp. in food animals*. EFSA Journal, 141(March), 1–44.
8. European Food Safety Authority EFSA (2007). *Data Collection including a proposal for a harmonized monitoring scheme of antimicrobial resistance in Salmonella in fowl (Gallus gallus), turkeys, and pigs and Campylobacter jejuni and C. coli in broilers*. EFSA Journal, 96(February), 1–46.
9. European Food Safety Authority. (2012). *Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance*. EFSA Journal, 10(6), 1–10.
10. Ferraro J. H. J., Jorgensen M. J. (2009). *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices*. Clinical Infectious Diseases, 7750, 1749–1755.
11. Founou L. L., Founou R. C., Essack S. Y. (2016). *Antibiotic Resistance in the Food Chain : A Developing Country Perspective*, Frontiers in Microbiology 7(November), 1–19.
12. Huys G., D'Haene K., Swings J. (2002). *Influence of the culture medium on antibiotic*

susceptibility testing of food-associated lactic acid bacteria with the agar overlay disc diffusion method. Letters in Applied Microbiology, 34(6), 402–406.

13. International Standardization Organization ISO (2010) *International Standard ISO 10932. (2010). Milk and milk products - Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics applicable to bifidobacteria and non-enterococcal lactic acid bacteria (LAB)*
14. Mathur S., Singh R. (2005). *Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - A review*. International Journal of Food Microbiology, 105(3), 281–295.
15. McDermott P. F., Bodeis-Jones S. M., Pritsche T. R., Jones R. N., Walker R. D. (2005). *Broth microdilution susceptibility testing of Campylobacter jejuni and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents*. Journal of Clinical Microbiology, 43(12), 6136–6138.
16. Silley, P. (2012). *Susceptibility testing methods , resistance and breakpoints : what do these terms really mean ?* Revue Scientifique et Technique Office International of Epizootics, 31(1), 33–41.
17. Thanner S., Drissner D., Walsch F. (2016) *Antimicrobial resistance in agriculture*. American Society for Microbiology - Perspective 7(2), e02227-15.
18. Wiegand I., Hilpert K., Hancock R. E. W. (2008). *Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances*. Nature Protocols, 3(2), 163–75.
19. World Health Organisation. (2011). *Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe*. World Health Organisation, 1–88.

Rad primljen: 18.6.2017.

Rad prihvaćen: 3.5.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801207L

UDK: 614.31:641/642

Rewiev scientific article

METHODS FOR THE ANTIBIOTIC RESISTANCE DETECTION IN MICROORGANISMS ISOLATED FROM FOOD

Tijana LEDINA^{1*}, Snežana BULAJIĆ¹, Jasna ĐORĐEVIĆ¹

1 Dr. Tijana Ledina, assistant, Dr. Snežana Bulajić, associate professor, Dr. Jasna Đorđević,
The Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Bulevar oslobođenja 18,
11000 Beograd, Srbija

* Corresponding autor: Tijana Ledina, e-mail: tijana.ledina@vet.bg.ac.rs

Abstract: Resistance to antibiotics is a growing problem that the World Health Organization has declared one of the biggest threats to global health. The food chain is one of the most important ways of transmitting and spreading resistance to antibiotics between the population of resistant and populated by sensitive commensal and / or pathogenic microorganisms. Resistance to antibiotics can be inborn, or acquired by mutation or lateral gene transfer. From the aspect of the spread of resistance, only resistance acquired by the lateral transfer of the gene is significant. There are numerous methods for detecting and determining the nature of antibiotic resistance in bacteria isolated from food. The methods must be standardized and ensure the consistency of the obtained results. Methods for determining the minimum inhibitory concentration of antibiotics are used to detect phenotypic resistance in bacteria isolated from food. They include a microdilution method, an agar dilution method, and an E-test. Qualitative and semi-quantitative methods commonly used in clinical isolates are not suitable for antibiotic resistance testing in food-isolated microorganisms. In the case of microorganisms with detected presence of phenotypic resistance to antibiotics, the presence of the resistance gene is determined. Microorganisms evidenced by the presence of genetic determinants associated with acquired resistance to antibiotics represent a risk of resistance dissemination among the susceptible populations. Commercially used microorganisms should not possess genetic determinants of transferable antibiotic resistance.

Key words: antibiotic resistance, minimum inhibitory concentration, genetic determinants of resistance

* The paper was presented at the 22nd Annual Consultation of the Doctors of Veterinary Medicine of the Republic of Srpska (BiH) with international participation

Acknowledgment: This review is part of the project no. 46009 and III 46010 of the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

INTRODUCTION

The beginning of the antibiotic era in the 1940s marked the true revolution in medicine, thanks to which lethal bacterial infections became curable. Soon after the emergence of antibiotic treatment, the first microorganisms that were resistant to them appeared. Today, antibiotic resistance is one of the biggest problems of mankind. (World Health Organization, WHO, 2011). In many countries, the annual use of antibiotics in veterinary medicine is far superior to the use of antibiotics in human medicine. As a result of metaphylaxis and prophylaxis in veterinary medicine, even healthy animals are continually exposed to large amounts of antibiotics. Microorganisms derived from animals are thus subjected to selective pressure, which leads to the survival of only antibiotic-resistant bacteria. (WHO, 2011). Food of animal origin allows direct contact between the microflora of the digestive tract of humans and animals and is one of the most important ways of spreading resistance between populations of humans and animals. From the aspect of food safety, beside resistant pathogenic microorganisms, commensal microorganisms that can serve as a reservoir for antibiotic resistance gene, are also important. (European Food Safety Authority EFSA, 2008). The products obtained

from raw meat and milk are especially incriminated due to the absence of thermal treatment, enabling the survival of a large number of microorganisms in them (Mathur and Singh, 2005). Resistance to antibiotics can be inborn or acquired. Inborn resistance is an inherent feature of the species or genus and has no significant role in the dissemination of resistance among the populations of microorganisms. The acquired resistance to antibiotics is specific only to certain strains within a generally susceptible species or genus and can be caused by mutations on existing genes or by acquisition of new genes by lateral transfer (Ammor et al., 2007). Inborn resistance and antibiotic resistance resulting from mutations are not important in non-pathogenic microbial species because they have no role in spreading resistance. Resistance obtained by lateral gene transfer carries the greatest risk for the spread of genetic determinants of resistance to susceptible microorganisms (Devirgiliis et al., 2011). Tracing resistance to pathogenic and commensurate microorganisms through the food chain is of the utmost importance for understanding and predicting the emergence and spread, as well as for planning adequate measures to prevent further dissemination of resistance to antibiotics. In order to successfully

monitor resistance to bacteria isolated from food, to determine its nature and to evaluate the ability to transfer to susceptible bacteria, it is necessary

to apply the appropriate methods of antibiotic resistance testing.

METHODS FOR TESTING RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

In examining the presence of resistance in microorganisms isolated from food, the phenotypic and genotypic methods are used. First, phenotypic resistance is determined using a qualitative or quantitative method. If evidence of phenotypic resistance, which could be a consequence of lateral gene transfer, is found in the isolates then it is necessary to determine the presence of genes which encode resistance.

Qualitative methods for detection of resistance to antibiotics

Disk diffusion method is the most frequently used qualitative method for determining resistance in microorganisms. A disk diffusion method is performed by applying an inoculum containing approximately $1-2 \times 10^8$ log CFU / mL of the examining microorganism to the surface of the Petri dish with the appropriate nutrient medium, and a filter-paper disk, impregnated with the compound to be tested, is then placed on it. The results are read after 16-24h by measuring the growth inhibition zone of the examined microorganism (Jorgensen and Ferraro, 2009). Although the disc diffusion method is most often used one in clinical isolates because it is cheap, simple and well-standardized, it is not suitable for determining resistance to

microorganisms isolated from food because there is no possibility of quantification of the results. Isolates based on the size of zone inhibition can only be classified as susceptible or resistant (EFSA, 2012).

Quantitative methods for the determination of minimal inhibitory concentrations of antibiotics

Quantitative methods based on the determination of minimal inhibitory concentration are recommended for testing resistance to bacteria isolated from food. (Minimal Inhibitory Concentration – MIC) (EFSA, 2008; EFSA, 2007; EFSA, 2012) The minimum inhibitory concentration is the lowest antibiotic concentration that has the ability to inhibit microorganism growth under precisely defined conditions (Wiegand et al., 2008). There are several methods for determining MIC values, such as agar dilution method, broth dilution method, E-tests, and more recently automated instrumental systems (Jorgensen and Ferraro, 2009).

In the agar dilution method, a certain concentration of antibiotics is added directly to the agar, and then the examined microorganism is deposited on its surface. Results are based on the presence or absence of microorganism

growth on agar surface after incubation (Wiegand et al., 2008). For the broth dilution method, a liquid medium is used with the addition of antibiotics at a precisely determined concentration to determine the presence of resistance. The method of macrodilution is performed in the tubes, and the broth volume into which the microorganism and the antibiotic are added should be greater than 2 mL. Although the macrodilution method is the first method developed to determine the MIC value it is no longer in use because it is more demanding and more expensive than the microdilution method (Jorgensen and Ferraro, 2009).

The microdilution method for determining the MIC values involves the use of microtitration plates, with the total volume in the well plate not exceeding 500 µL (Wiegand et al., 2008). Microtitration plates have standard 8 x 12 well configuration allowing 8 antibiotics in 12 concentrations, or 12 antibiotics in 8 concentrations to be tested. Antibiotic concentrations in the tubes or microtitration plates are usually in a series of double dilutions (e.g., 1, 2, 4, 8, etc. µg antibiotics / mL substrate). Microdilution plates can be made directly in a laboratory, but commercial plates with wells containing dehydrated antibiotics at appropriate concentrations are also available. Concentrations of antibiotics that are put into microtitration plate wells are prescribed by standards or appropriate guidelines (Jorgensen and Ferraro, 2009).

The results of the macrodilution method are interpreted on the basis of the broth cloudiness and in the microdilution method they are based on the presence or absence of the sediment in the microtitration well. The smallest concentration of antibiotics in which there is no visible cloudiness or sediment formation is the MIC value for the examined isolate (Jorgensen and Ferraro, 2009).

E-tests are thin plastic strips on the back of which antibiotics are applied in growing concentrations. On the other side, there is a scaling with numbers that indicate antibiotic concentrations. E-tests are placed on the surface of a suitable agar previously inoculated with the examining microorganism. MIC values are read as the point where the growth inhibition ellipse intersects the MIC scale on the strip. E-tests are simple and easy to perform, but they are not used in routine tests of food isolates since the price of such tests is very high (Jorgensen and Ferraro, 2009).

Recently, semi-automated and automated methods for the determination of MIC values have been developed, such as MicroScan WalkAway (Siemens Healthcare Diagnostics), BD Phoenix Automated Microbiology Diagnostics (BD Diagnostics), Vitek 2 System (bioMérieux) and Sensititre Aris 2X (Trek Diagnostic Systems). Automated methods allow rapid and standardized reading of results, but their use is still limited to clinical isolates (Jorgensen and Ferraro, 2009).

Specificity of resistance testing on antibiotics in microorganisms isolated from food

Microorganisms isolated from food are different from clinical isolates, so the resistance monitoring methods differ from the methods applied in clinical practice. Determination of resistance of a strain isolated from food is based on microbiological (epidemiological) MIC limit values, unlike clinical isolates for which resistance determination is based on clinical limit values (EFSA, 2008a). Microbiological limit values are set in relation to the distribution of MIC values in the bacterial population, and strains whose MIC values differ significantly from the distribution of MIC values within that species or genus are labeled as microbiologically resistant. Microorganisms that are microbiologically susceptible are not genetic carriers which encode the acquired resistance, whether it is a consequence of mutation or is caused by lateral gene transfer.

In contrast to microbiological limit values, clinical limit values are aimed at examining the possibilities of treating a bacterial infection with an antibiotic, taking into account clinical studies of efficacy, antibiotic dosing, pharmacodynamics and pharmacokinetics. When reading the results with microbiological limit values, there are only categories of resistance and susceptibility in microorganisms, but not intermediate sensitivity / resistance (Sillea, 2012).

Resistance monitoring programs for bacteria isolated from food set monitoring of resistance in *Salmonella* and *Campylobacter* as a minimum condition (WHO, 2011). In addition to these two genotypes, *Escherichia coli* was most commonly included as a marker of Gram negative commensal microflora and *Enterococcus* spp. as a marker of Gram positive commensal microflora (Founou et al., 2016; WHO 2011). According to the recommendations of the European Food Safety Authority (EFSA), testing of MIC values in *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Enterococcus* spp. and *E. coli* should be done according to instructions issued by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2017), but only using quantitative methods for determining MIC values, since the disk diffusion method is marked as inadequate (EFSA, 2008b; EFSA, 2007). The most commonly used medium for antibiotic resistance testing is Miler-Hinton Broth. However, it is not adequate for testing *Campylobacter* susceptibility because of their nutritional requirements. In this case Cation-Adjusted Mueller Hinton Broth (CAMHB) supplemented with 2-5% lysed horse blood is used. (McDermott et al., 2005).

According to EFSA recommendations, all microorganisms deliberately added to food, most commonly as a culture starter or probiotics, should not be the carriers of genetic determinants of resistance acquired by lateral gene transfer (EFSA, 2012). Since microorganisms are not

clinically relevant, the methods for testing MIC values are not given in the EUCAST guidelines. The problem of antimicrobial resistance testing in lactic acid bacteria was to select an adequate nutrient medium for bacterial growth in microtiter plates, as the commonly used Miller-Hinton and Iso-Sensitest broths did not prove to be adequate for all members of this group of microorganisms (Huys et al. , 2002) Recently, the ISO standard (ISO 10932, 2010) was issued, which defines the method for testing antimicrobial resistance in bifidobacteria and lactic

acid bacteria, except enterococcus. The medium used to grow microorganisms in microtitration plates is a Lactic Acid Bacteria Susceptibility Medium (LSM) consisting of 90% Iso- Sensitest Broth with addition of 10% MRS Broth (de Man, Rogosa, Sharpe - MRS). For testing resistance of Bifidobacterium spp. LSM, the cysteine (International Standardization Organization ISO 10932, 2010) is also added.

Table 1 shows the basic antibiotic groups to investigate the resistance of microorganisms isolated from food according to EFSA recommendations

Table 1 - Standard antibiotics (EFSA 2007, EFSA 2008b, EFSA 2012)

Microorganism	Antibiotics
<i>Salmonella</i> spp, <i>E. coli</i>	Cefotaxime, nalidixic acid, ciprofloxacin, ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, gentamicin, streptomycin, trimethoprim, sulfonamides
<i>Campylobacter jejuni</i> and <i>Campylobacter coli</i>	Erythromycin, ciprofloxacin, tetracycline, streptomycin, gentamicin
<i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Enterococcus faecium</i>	Streptomycin, gentamicin, chloramphenicol, ampicillin, vancomycin, erythromycin, kvipristin / dalfopristin, tetracycline, linezolid
Lactic acid bacteria and <i>Bifidobacterium</i> spp.	Ampicillin, vancomycin, gentamicin, kanamycin, streptomycin, erythromycin, clindamycin, tetracycline and chloramphenicol

* If *Enterococcus faecium* is added to the food in addition to these antibiotics, the resistance to tylosin should also be tested

Determination of antibiotic resistance gene

If the MIC value for some strain is above the set limit values, it is necessary to further investigate the nature of the resistance to determine whether it is inborn or acquired.

Inborn resistance is the specificity of the species or genus and accurate identification of the taxonomic affiliation of the strain tested is a basic precondition for determining the genetic basis of resistance (EFSA, 2008a). The genetic basis of resistance is determined by molecular-biological methods, and the most commonly used is PCR technique. All the data necessary for the design of primers, the data on resistance genes most commonly present in the examined microorganism, as well as data on their localization and transferability

can be found in literature. There are also databases, such as the ARDB (Antibiotic Resistance Database) database (ARDB, 2017), on antibiotic resistance genes available on the Internet.

Although PCR is the most commonly used method for proving the resistance gene, it requires the isolation of bacteria and their DNA and depends on the culture techniques and their limitations in bacterial isolation, that is why advanced, culture-independent techniques, such as meta-genomics and sequencing of whole genome are being improved. (Founou et al., 2016) These methods enable the detection and testing of the whole bacterial genome, the identification of new genetic traits and the identification of unknown genetic elements, which is not possible with PCR methods. (Allen, 2014; Thanner, 2016).

CONCLUSION

The great importance of monitoring antibiotic resistance through the food chain is becoming more and more recognized throughout the world. Resistance monitoring programs for microorganisms isolated from food are constantly being developed and

improved. Continuous advances in methods applied to food isolates are necessary in order to obtain the relevant results that are required for antibiotic resistance to be predicted, monitored and to prevent its spread in time.

REFERENCES

1. Allen H. K. (2014). Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. *Current Opinion in Microbiology*, 19(1), 25–29.
2. Ammor M. S., Flórez A. B., Van Hoek A. H. A. M., De Los Reyes-Gavilán C. G., Aarts H. J. M., Margolles A., Mayo B. (2007). Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14(1–3), 6–15.
3. Antibiotic resistance database ARDB (2017) <https://ardb.cbcb.umd.edu/>
4. Devirgiliis C., Barile S., Perozzi G. (2011). Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota. *Genes and Nutrition*, 6(3), 275–284.
5. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing EUCAST (2017) http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.0_Breakpoint_Tables.pdf
6. European Food Safety Authority EFSA (2008a). Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance. *The EFSA Journal*, 732(May 2005), 1–15.
7. European Food Safety Authority EFSA (2008b). Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in food animals. *EFSA Journal*, 141(March), 1–44.
8. European Food Safety Authority EFSA (2007). Data Collection including a proposal for a harmonized monitoring scheme of antimicrobial resistance in *Salmonella* in fowl (*Gallus gallus*), turkeys, and pigs and *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in broilers. *EFSA Journal*, 96(February), 1–46.
9. European Food Safety Authority. (2012). Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10(6), 1–10.
10. Ferraro J. H. J., Jorgensen M. J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 7750, 1749–1755.
11. Founou L. L., Founou R. C., Essack S. Y. (2016). Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country Perspective, *Frontiers in Microbiology* 7(November), 1–19.
12. Huys G., D’Haene K., Swings J. (2002). Influence of the culture medium on antibiotic susceptibility testing of food-associated lactic acid bacteria with the agar overlay disc diffusion method. *Letters in Applied Microbiology*, 34(6), 402–406.

13. International Standardization Organization ISO (2010) International Standard ISO 10932. (2010). Milk and milk products - Determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotics applicable to bifidobacteria and non-enterococcal lactic acid bacteria (LAB)
14. Mathur S., Singh R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281–295.
15. McDermott P. F., Bodeis-Jones S. M., Pritsche T. R., Jones R. N., Walker R. D. (2005). Broth microdilution susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(12), 6136–6138.
16. Silley, P. (2012). Susceptibility testing methods , resistance and breakpoints : what do these terms really mean ? *Revue Scientifique et Technique Office International of Epizootics*, 31(1), 33–41.
17. Thanner S., Drissner D., Walsch F. (2016) Antimicrobial resistance in agriculture. *American Society for Microbiology - Perspective* 7(2), e02227-15.
18. Wiegand I., Hilpert K., Hancock R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–75.
19. World Health Organisation. (2011). Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. *World Health Organisation*, 1–88.

Paper received: 18.6.2017.

Paper accepted: 03.5.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801225V

UDK: УДК 611.7:619-05

Naučna kritika

ZAŠTO VETERINARI TREBA DA POZNAJU PONAŠANJE ŽIVOTINJA*

Marijana VUČINIĆ^{1*}, Katarina NENADOVIĆ¹, Dunja KOVAČ²,
Ljiljana JANKOVIĆ¹

1 Katedra za zoohigijenu, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija

2 Kinološka Akademija, Vere Dimitrijević 9, 11186 Beograd, Zemun, Srbija

* Korespondentni autor: Prof.dr Marijana Vučinić, imejl: vucinicm@vet.bg.ac.rs

Kratak sadržaj: Ponašanje je najbrži način adaptacije životinje na promene koje se dešavaju u njenom organizmu ili u životnom okruženju. To je vidljiva osobina životinja. Zbog toga, veterinari mogu da koriste znanje o ponašanju životinja u mnogim granama veterinarske prakse i veterinarske nauke. Poznavanje ponašanja životinja može biti od pomoći u dijagnostici u veterinarskoj praksi. Osim toga, znanje o ponašanju životinja može se primeniti u svim postupcima postupanja sa životinjama kao i pri njihovom obuzdavanju, prilikom kliničkog pregleda životinja, u procesima učenja i obuke životinja, u usmeravanju kretanja životinja, hranjenju, reprodukciji i mnogim drugim aktivnostima. Smeštajni sistemi i sve vrste obogaćivanja uslova života su proizvodi primenjene nauke o ponašanju životinja. Veterinari moraju znati kako da spreče poremećaje u ponašanju i patološke oblike ponašanja životinja, ali i kako da ih leče. Takođe, oni treba da znaju kako da primene znanje o ponašanju životinja za dobrobit životinja. Dalje, nauka o ponašanju životinja može se primeniti u kontroli divljači i štetočina na humaniji način, kao i u očuvanju vrsta. Postoje mnogi drugi primeri primene znanja o ponašanju životinja u veterinarskoj praksi, a koji su izneti u ovom radu.

Ključne reči: životinja, ponašanje, primena, veterinarska praksa

UVOD

Veterinari dolaze u kontakt sa upotrebnim kategorijama životinja. Oni različitim vrstama životinja i različitim sprečavaju pojavu bolesti i povreda i

* Rad je prezentovan na 22. Godišnjem savjetovanju doktora veterinarske medicine Republike Srpske/BiH sa međunarodnim učešćem, Teslić 2017. godine

leče životinje koje služe za proizvodnju hrane i prirodnih vlakana (farmske životinje), službene/radne životinje i životinje koje se transportuju. Veterinari pregledaju životinje prispele na klanice i one koje se nalaze u stočnim depovima klanica, životinje koje čoveku služe za društvo, zabavu i razonodu ili one koje čovek gaji u kućnim kolekcijama, kao što su akvarijumske ribice, gmizavci, vodozemci, pa čak i insekti („hobisti“). Veterinari brinu i o dobrobiti i zdravlju životinja koje se drže u zoološkim vrtovima, u naučnim institucijama i u pogonima za proizvodnju bioloških preparata i lekova ili u obrazovnim institucijama. Brinu i o zdravlju napuštenih kućnih ljubimaca kao i o životinjama u prihvatilištima i pansionima, o divljim životinjama na prirodnim staništima, a u novije vreme i o

životinjama koje se koriste u zooterapiji, odnosno animoterapiji (Fine, 2010). Takođe, veterinari su često u situaciji da predlažu odluke o kraju života životinja (Knesl i sar., 2017). Ono zarad čega se mnogi vlasnici životinja zabrinu i posete veterinara jeste promena ponašanja životinja. Upravo ta promena ponašanja životinja inicijalni je okidač za prvi kontakt klijenta i veterinara. U 21. veku, kada je uveliko utemeljena posebna oblast veterinarske medicine, koja se zove biheavioristika životinja (američka terminologija), etologija (evropska terminologija) ili „primenjena nauka o ponašanju životinja“, od veterinara se zahteva da je dobro poznaju i primenjuju u svakodnevnoj praksi. Njena primena je od neprocenjivog značaja za ugled, konkurentnost i održivost veterinarske struke (Loftus, 2014).

ŠTA JE TO PONAŠANJE ŽIVOTINJA?

Postoje različite definicije ponašanja životinja. Ponašanje je fiziološka funkcija organizma, koja je za razliku od ostalih funkcija jasno uočljiva, odnosno vidljiva. To je svaka aktivnost životinje uključujući i fazu mirovanja i sna. Za razliku od ostalih fizioloških funkcija, ponašanje može da se procenjuje golim okom. Kao i sve ostale fiziološke funkcije, tako i ponašanje životinja ima svoju ulogu, ali ima i svoj uzrok i svoj povod, kao i cilj.

Ponašanje je najbrži način reagovanja i prilagođavanja životinje na promene u životnom okruženju i unutar organizma, a zato i najbrži način očuvanja homeostaze

i celovitosti organizma. Na kraju, cilj ponašanja je postizanje osećanja fizičke i termičke udobnosti, prijetnosti, fizičkog i emocionalnog zadovoljstva životinje.

Uzrok ponašanja je uvek neka potreba, odnosno nagon životinje. Aktivirani nagoni prouzrokuju određene emocije, a emocije rezultiraju određenim oblikom ponašanja životinja. Nagoni su pokretači devet osnovnih oblika ponašanja životinja, a to su: reaktivnost, odmor i san, kretanje, higijensko ponašanje (obuhvata higijenu kože i pokrivača kože, higijenu staništa, higijenu mladunaca, defeciranje i uriniranje, termoregulaciju i protezanje), hranidbeno, teritorijalno,

istraživačko (uključuje igru), socijalno (uključuje komunikaciju) i reproduktivno ponašanje (ponašanje u toku polnog nagona, ljubavna predigra, kopulacija, ponašanje u toku graviditeta kod ženki, partus kod ženki, roditeljsko ponašanje, odnosno nega mladunaca). Nagoni kod životinja ne mogu da se potisnu. Oni su urođeni i životinje su uvek motivisane da ih zadovolje. Načinom držanja, životinja može jedino da se spreči da zadovolji nagon na prirodan način, zapravo primenom neke od fizioloških strategija. Onemogućavanjem životinje da zadovolji svoje urođene potrebe na prirodan način nastaju oskudevanja, a njihova posledica su frustracije. Posledica dugotrajnih frustracija je promena ponašanja životinje u pravcu razvoja poremećaja i patoloških oblika ponašanja. Nagoni ne mogu da se programiraju niti da se reprogramiraju. Oni su genetički nefleksibilni i zajednički su za sve životinje.

Povod ponašanja su uvek stimulusi koji se uglavnom nalaze u spoljašnjoj sredini, ali mogu da potiču i iz samog organizma.

PRIMENA ZNANJA O PONAŠANJU ŽIVOTINJA U VETERINARSKOJ PRAKSI

Pred kraj prošlog veka istaknuto je da obrazovanje iz veterinarske medicine zahteva da bihevioristika ili etologija (primenjena nauka o ponašanju životinja) u veterinarskom kurikulumu bude zastupljena slično kao anatomija i fiziologija (Sambras, 1998). Nemački naučnik (Sambras, 1998) je istakao značaj etologije. U mnogim zemljama Evropske unije ovakvo obrazovanje je

Po svojoj prirodi, stimulusi mogu da budu biotički i abiotički. Zato ponašanje jasno pokazuje kako se životinja ophodi i kako reaguje u odnosu na druge životinje iste vrste, različitih vrsta, na čoveka ili na predmete, materijale i pojave u životnom okruženju.

Kod svih životinja postoje i visoko specifični oblici ponašanja karakteristični za vrstu. Zato je obaveza čoveka da, životinjama koje drži u zatočeništvu, obezbedi sve uslove neophodne za ispoljavanje visoko specifičnih oblika ponašanja.

Posledica ponašanja je uvek neka emocija, osećanje, odnosno iskustvo životinje. Povezujući posledice ponašanja sa obavljenim aktivnostima, koje su učestvovalе u ispoljavanju ponašanja, životinje uče.

Za veterinare je bitno da poznaju emocije životinja. Emocije nisu uočljive kao što je to ponašanje. Ponašanje je indikator emocija (Beausoleil i sar., 2016).

zaživeo, dok je u zemljama balkanskog regiona izostalo.

Znanje o ponašanju životinja primenjivo je u svim oblastima veterinarske struke u kojima veterinari dolaze u direktan kontakt sa životinjama. Prvo, primenjivo je u načinu prilaženja i obuzdavanja svih upotrebnih kategorija životinja. Ovde

se znanje iz bihevioristike primenjuje radi eliminisanja ili minimalizovanja primene fizičke sile u ovim aktivnostima i radi njihovog humanizovanja. Takođe, hvatanje, odnosno sakupljanje nezbrinutih životinja na javnim površinama sve više zahteva da se napuste grubi i neestetski načini i da se primene načini bez fizičke sile. Znanje o ponašanju životinja primenjuje se i radi bezbednosti rada i smanjivanja povreda veterinara, pomoćnog osoblja, drugih životinja ili same životinje sa kojom je veterinar, vlasnik ili radnik u kontaktu. Danas se zahteva da veterinar dobro poznaje bihevioristiku životinja, odnosno ponašanje koje one izražavaju „govorom tela“ ili grimasama (*Di Giminiani* sar., 2016). Ove „namere“ su posledica određenih emocija, a njihov rezultat će biti određeni oblik ponašanja životinja. Govor tela i grimase neophodno je poznavati i u dijagnostičke svrhe, kako bi se životinja oslobodila neprijatnih emocionalnih stanja prouzrokovanih bolestima ili povredama, a posebno bola (*Di Giminiani* i sar., 2016). Takođe ih je neophodno poznavati i prilikom obučavanja, odnosno vaspitavanja i treninga životinja (*Hasegawa* i sar., 2014), kako bi se blagovremeno uočilo šta životinja uči lako, teško, šta je zbunjuje, plaši, privlači, motiviše, a šta odbija prilikom savladavanja novih veština. Neprijatno emocionalno iskustvo kao što je bol, gotovo uvek je povezano sa smanjenjem bihevioralnih aktivnosti (*Viscardi* i sar., 2017).

Znanja o ponašanju životinja primenjiva su i u oblasti veterinarske

preventive kod svih upotrebnih kategorija životinja. Projektovanje i uređenje smeštajnog prostora za životinje treba da bude u skladu sa oblicima ponašanja karakterističnim za vrstu životinje (*Balcombe*, 2006). Zato i nije iznenađenje što u današnje vreme legislativa obavezuje na smeštaj životinja u „naturalizovanom“ okruženju kao što je, na primer, slučaj kod nosilja kojima je u kaveznom sistemu držanja potrebno obezbediti materijal za penjanje, skrivanje, čeprkanje i „perušanje“ (*Costa* i sar., 2012).

Poznavanje ponašanja bitan je „dijagnostički alat“ u rukama veterinara. Kod pojedinih bolesti, životinja prestaje da ispoljava određene oblike ponašanja ili ih svodi na minimum ili ih ispoljava na neki drugi način, u neko drugo vreme i na nekom drugom mestu u poređenju sa uobičajenim. Ovo sve može da ukaže na prisustvo bolesti akutnog toka, a cilj promene ponašanja u pravcu smanjenja njegovog intenziteta je upravo čuvanje energije, preko potrebne za „borbu“ organizma sa uzrokom bolesti i ubrzanjem ozdravljenja. U hroničnom toku bolesti, određeni fiziološki oblici ponašanja ispoljavaju se na drugačiji način od uobičajenog, a sve u pokušaju životinje da dostigne stanje udobnosti, prijatnosti, sigurnosti i zadovoljstva. Takođe, poznavanje ponašanja omogućava veterinarima da kod životinja blagovremeno prepoznaju prisustvo neprijatnih telesnih i emocionalnih iskustava kao što su anksioznost, strah, stres, konflikti, frustracije, dosada, patnja i druga. U suprotnom, mogu da se

razviju primarni poremećaji i patološki oblici ponašanja (*Kiley-Worthington, 1977; Mench, 1998*). Sekundarni poremećaji i patološki oblici ponašanja su uvek sastavni deo simptomatologije poremećaja funkcije nekog drugog organa ili organskog sistema.

Postupak ocene dobrobiti životinja zasnovan je na vrednovanju direktnih i indirektnih pokazatelja, od kojih je ponašanje životinja direktan pokazatelj (*Fraser, 2009*), pri čemu se u obzir uzima ispoljenost fizioloških oblika ponašanja, prisustvo poremećaja i patoloških oblika ponašanja, ponašanje prema životinjama u okruženju i ponašanje životinja prema ljudima.

Na kraju, znanje o ponašanju može da se primeni ne samo u oceni dobrobiti već i u obezbeđenju dobrobiti životinja i predstavlja jedan od glavnih mehanizama njenog obezbeđenja. Dovoljno je poznavati šta životinja oseća i čemu životinja teži, odnosno šta joj je potrebno na osnovu njenog ponašanja i obezbediti joj to što joj nedostaje ili čemu teži, pa da je dobrobit već zadovoljena (*Dawkins, 2004*).

Brojni su primeri koji pokazuju kako se sve danas u sklopu savremene veterinarske prakse primenjuje znanje o ponašanju životinja. Veterinari koji poznaju ponašanje životinja bolji su kliničari i u mogućnosti su da utiču na očuvanje veze vlasnik-životinja, što je od posebnog značaja za životinje koje se koriste kao kućni ljubimci. Poremećaji i patološki oblici ponašanja kućnih ljubimaca često su uzrok njihovog

napuštanja, poklanjanja, prepuštanja prihvatilištima, a ponekad i preuranjene eutanazije. Upravo zato je blagovremena dijagnostika i tretman poremećaja i patoloških oblika ponašanja, ključna za očuvanje veze koja postoji između vlasnika i kućnih ljubimaca (*Seibert and Landsberg, 2008; Sherman and Serpel, 2008*).

Bihejvioristi mogu da rade u kliničkoj praksi, ali mogu da rade i u oblastima koje pokriva primenjena veterinarska nauka. Tako u kliničkoj praksi mogu da rade sa kućnim ljubimcima, sportskim životinjama, farmским životinjama, životinjama u zoološkim vrtovima i oglednim životinjama. U kliničkoj praksi, zadatak bihejviorista je da spreče pojavu poremećaja i patoloških oblika ponašanja životinja, da na vreme prepoznaju pojavu ovih poremećaja i da znaju da ih tretiraju. Ukoliko veterinari nisu u mogućnosti da sami tretiraju poremećaje i patološke oblike ponašanja, njihova dužnost je da upute klijente kod stručnjaka koji ovo znaju. Svakako, medikamentozni tretman poremećaja i patoloških oblika ponašanja životinja, odnosno psihofarmakoterapija, i dalje je u rukama veterinara.

Psihofarmakoterapija se jedino ne sprovodi kod farmских životinja koje služe za proizvodnju hrane za ljude. Međutim, kod svih nabrojanih upotrebnih kategorija životinja, veterinari mogu da rade na preveniranju poremećaja i patoloških oblika ponašanja. Jedan od načina je „obogaćivanje uslova života“ životinja. Obogaćivanje uslova života sprovodi se kod svih upotrebnih

kategorija životinja. Ovo je strategija koja podrazumeva umetanje takvih materijala, supstrata, predmeta i pojava u životni prostor životinja, a koje ih motivišu na ispoljavanje boljih ili lošijih oblika ponašanja za vrstu, ali i na ostale bihevioralne aktivnosti. Obogaćivanje uslova života može biti strukturno, hranidbeno, manipulativno, senzorno (vizuelno, auditorno, gustatorno, taktilno) i socijalno (Young, 2003).

Bihevioristika je primenjena nauka. Zato veterinari mogu da rade na poslovima koji se odnose i na

humanu kontrolu štetočina (Clapperton, 2006; Meerburg i sar., 2008), divljih životinja ili na biokonzervaciju (Berger-Tal i sar., 2016; Caro, 2016; Merrick and Koprowski, 2017) i na pronalaženje novih lekova (Hanell and Marklund, 2014). U novije vreme, bihevioristika i etologija dobijaju sve više na tehnološkom značaju i drugačije se zovu „bihevioralni inženjering“. Međutim, primarno mesto bihevioristike i etologije ostaće obezbeđenje dobrobiti životinja i čoveka (Marchant-Forde, 2015).

ZAKLJUČAK

Poznavanje ponašanja životinja i primena u svakodnevnom radu garantuju ugled i održivost veterinarske struke.

Primena znanja o ponašanju životinja u predkliničkoj i kliničkoj praksi može da se primeni i u veterinarskoj preventivi, u osmišljavanju i izgradnji smeštajnih sistema za različite upotrebne kategorije

životinja, u svim postupcima sa životinjama kao i u oceni i obezbeđenju dobrobiti životinja.

Neophodno je da kod nas bihevioristika ili etologija životinja bude dio kurikuluma u obrazovanju doktora veterinarske medicine, kao što je to u zapadnim zemljama.

LITERATURA

1. Balcombe J.P. (2006): *Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review*. Laboratory Animals 40: 217–235.
2. Beausoleil N.J., Stratton R.B., Guesgen M.J., Sutherland M.A., Johnson C.B. (2016): *Scientific evaluation of animal emotions: Brief history and recent New Zealand contributions*. Journal of New Zealand Studies NS22: 63–71.
3. Berger-Tal O., Blumstein D.T., Carroll S., Fisher R.N., Mesnick S.L., Owen M.A., Saltz D., St. Claire C.C., Swaisgood R.R. (2016): *A systematic survey of the integration of animal behavior into conservation*. Conservation Biology 30: 744–753.
4. Caro T. (2016): *Behavior and conservation, conservation and behavior*. Current

Opinion in Behavioral Sciences 12: 97–102.

5. Clapperton B.K. (2006): *A review of the current knowledge of rodent behaviour in relation to control devices*. Department of Conservation, Science & Technical Publishing, Wellington, New Zealand.
6. Costa L.S., Pereira D.F., Bueno L.G.F., Pandorfi H. (2012): *Some aspects of chicken behavior and welfare*. Brazilian Journal of Poultry Science 14: 159–164.
7. Dawkins M.S. (2004): *Using behaviour to assess welfare*. Animal Welfare 13: S3–S7.
8. Di Giminiani P., Brierley V.L.M.H., Scollo A., Gottardo F., Malcolm E.M., Edwards S.A., Leach M.C. (2016): *The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale*. Frontier in Veterinary Science 3: 100. doi: 10.3389/fvets.2016.00100.
9. Fine A. (2010): *Handbook on Animal-Assisted Therapy*, 3rd Edn. Academic Press, London.
10. Fraser D. (2009): *Animal behaviour, animal welfare and the scientific study of affect*. Applied Animal Behaviour Science 118: 108–117.
11. Hanell A., Marklund N. (2014): *Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research*. Frontiers in Behavioral Neuroscience 8: 252. doi:10.3389/fnbeh.2014.00252.
12. Hasegawa M., Ohtani N., Ohta M. (2014): *Dogs' Body Language Relevant to Learning Achievement*. Animals 4: 45–58.
13. Kiley-Worthington M. (1977): *Behavioural problems of farm animals*. Oriel Press Ltd, Charleville, County Cork, Ireland.
14. Knesl O., Hart B.L., Fine A.H., Cooper L., Patterson-Kane E., Houlihan K.E., Anthony R. (2017): *Veterinarians and Humane Endings: When Is It the Right Time to Euthanize a Companion Animal?* Frontier in Veterinary Science 4: 45. doi: 10.3389/fvets.2017.00045.
15. Loftus L. (2014): *Behavioural considerations in veterinary practice*. Veterinary Nursing Journal 29: 166–169.
16. Marchant-Forde J.N. (2015): *The science of animal behavior and welfare: challenges, opportunities, and global perspective*. Frontier in Veterinary Science 2: 16. doi: 10.3389/fvets.2015.00016.
17. Meerburg B.G., Brom F.W.A., Kijlstra A. (2008): *The ethics of rodent control*. Pest Management Science 64: 1205–1211.

18. Mench J. (1998): *Why it is important to understand animal behavior*. ILAR 39: 20–26.
19. Merrick M.J., Koprowski J.L. (2017): *Should we consider individual behavior differences in applied wildlife conservation studies?* Biological Conservation 209:34–44.
20. Sambraus H.H. (1998): *Applied ethology—it's task and limits in veterinary practice*. Applied Animal Behaviour Science 59:39–48.
21. Seibert L.M., Landsberg G.M. (2008): *Diagnosis and management of patients presenting with behavior problems*. Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice 38: 937 –950.
22. Sherman B.L., Serpell J.A. (2008): *Training veterinary students in animal behavior to preserve the human-animal bond*. Journal of Veterinary Medical Education 35: 496–502.
23. Viscardi A.V., Hunniford M., Lawlis P., Leach M., Turner P.V. (2017): *Development of a Piglet Grimace Scale to Evaluate Piglet Pain Using Facial Expressions Following Castration and Tail Docking: A Pilot Study*. Frontier in Veterinary Science 4: 51. doi: 10.3389/fvets.2017.00051.
24. Young R.J. (2003): *Environmental Enrichment for Captive Animals*. UFAW Animal Welfare, Blackwell Science, Limited, Oxford, UK.

Rad je primljen: 18.6.2017.

Rad je prihvaćen: 27.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801225V

UDK: УДК 611.7:619-05

Scientific criticism

WHY VETERINARIANS SHOULD UNDERSTAND ANIMAL BEHAVIOR

Marijana VUČINIĆ^{1*}, Katarina NENADOVIĆ¹, Dunja KOVAČ², Ljiljana JANKOVIĆ¹

1 Department of Animal Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade,
Bul. oslobodjenja 18, 11000 Belgrade, Serbia

2 Cynology Academy, Vere Dimitrijević 9, 11186 Belgrade, Zemun, Serbia

* Corresponding author: Prof.dr Marijana Vučinić, e-mail: vucinicm@vet.bg.ac.rs

Abstract: Behavior is the fastest way of animal adaptation to changes that occur in its organism or in its habitat. This is a visible feature of animals. Therefore, veterinarians can use knowledge about animal behavior in many branches of veterinary practice and veterinary science. Knowledge of animal behavior can also be helpful in diagnostics in veterinary practice. In addition, knowledge of animal behavior can be applied in all animal treatment procedures, as well as in their restraint, animal examination, animal learning and training, animal tracking, feeding, reproduction and many other activities. Accommodation systems and all kinds of enrichment of living conditions are part of applied animal behavior science. Veterinarians must know how to prevent behavioral disorders and pathological forms of animal behavior, but also how to treat them. They also need to know how to apply knowledge about animal behavior to protect animal welfare. Applied animal behavior science can be applied to control game animals and pests in a more humane way as well as in conservation of species. There are many other examples of application of animal behavioral knowledge in veterinary practice, as it is presented in this paper.

Key words: animal, behavior, application, veterinary practice

INTRODUCTION

Veterinarians come in contact with different animal species and different categories of animal use. They prevent the occurrence of illnesses and injuries and they treat animals used for the production of food and natural fibers (farm animals), official / working animals and animals being transported.

* The paper was presented at the 22nd Annual Consultation of the Doctor of Veterinary Medicine of Republika Srpska / B&H with international participation, Teslic in 2017

Veterinarians examine animals that have arrived at slaughterhouses and those found in cattle depots, animals used for fun, entertainment and recreation, or those kept by people in private collections such as freshwater aquarium fish, reptiles, amphibians, and even insects (“hobbyists”). Veterinarians also take care of welfare and health of the animals which are kept in zoos, in scientific institutions and in plants for the production of biological preparations and medicines or in educational institutions. They also treat abandoned pets, as well as animals in shelters, wildlife in natural habitats, and more recently animals used in zootherapy and animotherapy (Fine, 2010). Also, veterinarians are often in a position to propose decisions about the

end of life of animals (Knesl et al., 2017). A change in behavior of animals is the reason why many owners get worried and visit a veterinarian. This change in animal behavior is the initial trigger for the first contact between a client and a veterinarian. In the 21st century, when a special area of veterinary medicine, called animal behaviorism (American terminology), ethology (European terminology), or “Applied Animal Behavior Science” is widely established, a veterinarian is required to know it well and apply it in everyday practice. Its application is of undeniable significance for the reputation, competitiveness and sustainability of the veterinary profession (Loftus, 2014).

WHAT IS ANIMAL BEHAVIOR?

There are different definitions of animal behavior. Behavior is the physiological function of an organism, which, unlike other functions, is clearly visible. It is every activity of the animal, including phases in which animals are inactive or sleeping. Unlike other physiological functions, behavior can be estimated by the naked eye. Like all other physiological functions, animal behavior has its role, but it also has its cause and reason as well as its goal.

Behavior is the fastest way of animals' responding and adjusting to changes in the living environment and within the body, and therefore it's the fastest way of preserving the homeostasis and the integrity of the organism. The goal

of behavior is to achieve the feeling of physical and thermal comfort, pleasantness, physical and emotional satisfaction of the animal.

The cause of behavior is always a necessity, that is an instinct of an animal. Activated instincts cause certain emotions, and emotions result in a certain form of animal behavior. Instincts are driving forces of the nine basic forms of animal behavior, such as: reactivity, rest and sleep, movement, hygienic behavior (includes hygiene of skin and skin covering, hygiene of habitats, hygiene of cubs, defecation and urination, thermoregulation and stretching), feeding, investigative and territorial behaviour (including game),

social (including communication) and reproductive behavior (behavior including sexual instinct, foreplay, copulation, pregnancy behavior in females, partus, parental behavior, or nursing). Animal instincts can not be suppressed. They are innate and animals are always motivated to satisfy them. By the way in which it is kept, an animal can only be prevented from satisfying the instinct in a natural way, that is by applying some of the physiological strategies. Disabling animals to meet their innate needs in a natural way causes scarceness which leads to frustration. The result of long-term frustration is the behavioral change in the direction of the development of disorders and pathological behaviors. Instincts cannot be programmed or reprogrammed. They are genetically inflexible and are common to all animals.

The cause of behavior is always the stimulus that is mostly found in the outer environment, but it can also come from the body itself. By their very nature, stimuli can be biotic and

abiotic. Consequently, behavior clearly shows how an animal responds to other animals of the same species, different species, people or objects, materials, and phenomena in its living environment.

There are also highly specific forms of behavior that are typical for certain species. That is why a man who keeps animals in captivity has to provide all necessary conditions for the expression of highly specific forms of behavior.

The consequence of behavior is always some kind of emotion, feeling, or experience of an animal. Animals learn by associating the consequences of behavior with the activities that have taken part in the manifestation of behavior. It is important for veterinarians to understand animal emotions. Emotions are not as noticeable as behavior. Behavior is an indicator of emotions (Beausoleil et al., 2016).

APPLICATION OF KNOWLEDGE ABOUT ANIMAL BEHAVIOR IN VETERINARY PRACTICE

Towards the end of the last century it was pointed out that behavioralism or ethology (applied animal behavior science) should be represented in veterinary medicine curriculum similarly to anatomy and physiology (Sambras, 1998). The German scientist (Sambras, 1998) emphasized the importance of ethology. In many countries of the European Union, curriculum reform has come to life, while that still hasn't

happened in the countries of the Balkan region.

Knowledge about animal behavior is applicable in all areas of veterinary profession in which veterinarians come into direct contact with animals. First, it is applicable in the way of approaching and restraining in all categories of animal use. In these cases knowledge of behavioralism is applied to eliminate

or minimize the application of physical force in these activities and in their humanization. Also, harsh and non-aesthetic methods of catching stray animals in public places should be replaced with methods without physical force. Knowledge about animal behavior is also applied for the safety of work and the reduction of injuries to veterinarians, staff, other animals or the animal with which the veterinarian, owner or worker is in contact. Today, a veterinarian is required to understand animal behavior that is, the behavior expressed by “body language” or grimaces (Di Giminianii sar., 2016). These “intentions” are the result of certain emotions, and their result will be a specific form of animal behavior. It is also necessary to know body language and grimaces for diagnostic purposes in order to free the animal from unpleasant emotional conditions caused by illnesses or injuries, especially the pain (Di Giminiani et al., 2016). It is also necessary to know them during training of animals (Hasegawa et al., 2014) in order to see what is easy or difficult for animals to learn, what they find confusing, frightening, attractive, motivational, and what keeps them from gaining new skills. An unpleasant emotional experience such as pain is almost always associated with a reduction in behavioral activity (Viscardi et al., 2017).

Knowledge about animal behavior is also applicable in the field of veterinary prevention in all categories of animals use. The design of animal facilities

should be in accordance with the behavioral forms typical for certain animal species (Balcombe, 2006). Therefore, it is not a surprise that today’s legislation requires animals to be housed in a “naturalized” environment, as is the case of laying hens, for example, a cage should be equipped with things for climbing, hiding, poking about and plucking. (Costa et al, 2012).

Behavioral knowledge is an important “diagnostic tool” in the hands of a veterinarian. In certain animal diseases, the animal ceases to manifest certain forms of behavior or minimizes them or exposes them in some other way, at some other time, and in some other place compared to the usual. This can all point to the presence of acute disease, and the goal of changing behavior is simply saving the energy which organism needs to “fight” with the cause of the disease and to accelerate the healing. In the chronic course of the disease, certain physiological forms of behavior are manifested in a different way than the usual one, in the attempt of an animal to reach the state of comfort, comfort, safety and satisfaction. Also, knowledge of animal behavior allows veterinarians to timely diagnose unpleasant physical and emotional experiences such as anxiety, fear, stress, conflict, frustration, boredom, suffering, etc. Otherwise, primary disorders and pathological behaviors may develop (Kiley-Worthington, 1977; Mench, 1998). Secondary disorders and pathological behaviors are always an integral part of

the symptomatology of another organ or organ system dysfunction.

Animal welfare assessment is based on the evaluation of direct and indirect indicators, of which animal behavior is a direct indicator (Fraser, 2009), taking into account manifestation of physiological behavior patterns, the presence of disorders and pathological forms of behavior, behavior towards animals in the environment, and animal behavior towards humans.

Behavioral knowledge can be applied not only in the assessment of animal well-being but also in ensuring animal welfare and it is one of the main mechanisms of its provision. It is enough to know what an animal needs, on the basis of its behavior and to ensure what it is missing, and the well-being is already achieved (Dawkins, 2004).

Today, there are numerous examples that show in what ways knowledge about animal behaviour is applied in veterinary medicine. Veterinarians who know the behavior of animals are better clinicians and are able to influence the preservation of the owner-animal relationship, which is of particular importance to animals used as pets. Disorders and pathological forms of pets' behavior are often the cause of their abandonment, sheltering, and sometimes premature euthanasia. That is why timely diagnosis and treatment of disorders and pathological forms of behavior is crucial for maintaining the relationship between owners and pets (Seibert and Landsberg, 2008; Sherman and Serpel, 2008).

Behaviorists can work in clinical practice, but they can also work in areas covered by applied veterinary science. In clinical practice they can work with pets, animals in sports, farm animals, animals in zoos and experimental animals. In clinical practice, the task of behaviorists is to prevent the occurrence of disorders and pathological forms of animal behavior, to recognize the occurrence of these disorders in time and to know how to treat them. If veterinarians are not able to treat disorders and pathological behaviors themselves, their duty is to guide their clients to experts who know this. Certainly, the medication treatment of disorders and pathological behaviors of animals, or psychopharmacotherapy is still in the hands of veterinarians. Psychopharmacotherapy isn't applied to farm animals used in food production. However, in all listed animal categories of use, veterinarians can work on prevention of disorders and pathological behaviors. One way is to "enrich living conditions" of animals. Enrichment of living conditions is carried out in all categories of animal use. This strategy involves placing materials, substrates and objects into the living space of animals that motivate animals to show better or worse behavior for their species, but also other behavioral activities. Enrichment of living conditions can be structural, nutritional, manipulative, sensory (visual, auditory, gustatory, tactile) and social (Young, 2003).

Behaviorism is applied science. Therefore, veterinarians can work

in pest control (Clapperton, 2006; Meerburg et al., 2008), wildlife control or bioconversion (Berger-Tal et al., 2016; Caro, 2016; Merrick and Koprowski, 2017) and in the search for new drugs (Hanell and Marklund, 2014). In recent times, behaviourism

and ethology are becoming more and more technologically important and are referred to as “behavioral engineering”. However, ensuring animal welfare will stay the primary task of behaviourism and ethology.

CONCLUSION

Knowledge of animal behavior and its application in everyday work guarantee the reputation and sustainability of the veterinary profession.

The application of animal behavior knowledge in pre-clinical and clinical practice can also be applied in veterinary prevention, in designing and building

accommodation systems for different categories of animal use, in all animal procedures as well as in assessing and providing animal welfare.

It is necessary to include behaviorism or ethology in veterinary medicine curriculum in our county, as it is the case in Western countries.

REFERENCES

1. Balcombe J.P. (2006): *Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review*. Laboratory Animals 40: 217–235.
2. Beausoleil N.J., Stratton R.B., Guesgen M.J., Sutherland M.A., Johnson C.B. (2016): *Scientific evaluation of animal emotions: Brief history and recent New Zealand contributions*. Journal of New Zealand Studies NS22: 63-71.
3. Berger-Tal O., Blumstein D.T., Carroll S., Fisher R.N., Mesnick S.L., Owen M.A., Saltz D., St. Claire C.C., Swaisgood R.R. (2016): *A systematic survey of the integration of animal behavior into conservation*. Conservation Biology 30: 744–753.
4. Caro T. (2016): *Behavior and conservation, conservation and behavior*. Current Opinion in Behavioral Sciences 12: 97–102.
5. Clapperton B.K. (2006): *A review of the current knowledge of rodent behaviour in relation to control devices*. Department of Conservation, Science & Technical Publishing, Wellington, New Zealand.
6. Costa L.S., Pereira D.F., Bueno L.G.F., Pandorfi H. (2012): *Some aspects of chicken behavior and welfare*. Brazilian Journal of Poultry Science 14: 159-164.
7. Dawkins M.S. (2004): *Using behaviour to assess welfare*. Animal Welfare 13: S3–S7.

8. Di Giminiani P., Brierley V.L.M.H., Scollo.A., Gottardo F., Malcolm E.M., Edwards S.A., Leach M.C. (2016): *The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale*. *Frontier in Veterinary Science* 3: 100. doi: 10.3389/fvets.2016.00100.
9. Fine A. (2010): *Handbook on Animal-Assisted Therapy*, 3rd Edn. Academic Press, London.
10. Fraser D. (2009): *Animal behaviour, animal welfare and the scientific study of affect*. *Applied Animal Behaviour Science* 118: 108–117.
11. Hanell A., Marklund N. (2014): *Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research*. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8: 252. doi:10.3389/fnbeh.2014.00252.
12. Hasegawa M., Ohtani N., Ohta M. (2014): *Dogs' Body Language Relevant to Learning Achievement*. *Animals* 4: 45-58.
13. Kiley-Worthington M. (1977): *Behavioural problems of farm animals*. Oriel Press Ltd, Charleville, County Cork, Ireland.
14. Knesl O., Hart B.L., Fine A.H., Cooper L., Patterson-Kane E., Houlihan K. E., Anthony R. (2017): *Veterinarians and Humane Endings: When Is It the Right Time to Euthanize a Companion Animal?* *Frontier in Veterinary Science* 4: 45. doi: 10.3389/fvets.2017.00045.
15. Loftus L. (2014): *Behavioural considerations in veterinary practice*. *Veterinary Nursing Journal* 29: 166–169.
16. Marchant-Forde J.N. (2015): *The science of animal behavior and welfare: challenges, opportunities, and global perspective*. *Frontier in Veterinary Science* 2: 16. doi: 10.3389/fvets.2015.00016.
17. Meerburg B.G., Brom F.W.A., Kijlstra A. (2008): *The ethics of rodent control*. *Pest Management Science* 64:1205-1211.
18. Mench J. (1998): *Why it is important to understand animal behavior*. *ILAR* 39: 20-26.
19. Merrick M.J., Koprowski J.L. (2017): *Should we consider individual behavior differences in applied wildlife conservation studies?* *Biological Conservation* 209:34-44.
20. Sambras H.H. (1998): *Applied ethology—it's task and limits in veterinary practice*. *Applied Animal Behaviour Science* 59:39-48.
21. Seibert L.M., Landsberg G.M. (2008): *Diagnosis and management of patients presenting with behavior problems*. *Veterinary Clininics of North America. Small Animal Practice* 38: 937-950.
22. Sherman B.L., Serpell J.A. (2008): *Training veterinary students in animal behavior*

- to preserve the human-animal bond*. Journal of Veterinary Medical Education 35: 496-502.
23. Viscardi A.V., Hunniford M., Lawlis P., Leach M., Turner P.V. (2017): *Development of a Piglet Grimace Scale to Evaluate Piglet Pain Using Facial Expressions Following Castration and Tail Docking: A Pilot Study*. Frontier in Veterinary Science 4: 51. doi: 10.3389/fvets.2017.00051.
24. Young R.J. (2003): *Environmental Enrichment for Captive Animals*. UFAW Animal Welfare, Blackwell Science, Limited, Oxford, UK.

Paper received: 18.6.2017.

Paper accepted: 27.3.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801241D

UDK: 614.48:636.083

Originalni naučni rad

ANALIZA EFEKATA SPROVEDE DEZINFEKCIJE POVRŠINA I OPREME U RAZLIČITIM PROIZVODNIM CELINAMA NA FAZANERIJI PRIMENOM RASTVORA NA BAZI PERSIRČETNE KISELINE I FORMALDEHIDA

**Milutin ĐORĐEVIĆ^{1*}, Branislav PEŠIĆ², Brana RADENKOVIĆ
DAMNJANOVIĆ¹, Ljiljana JANKOVIĆ¹, Radislava TEODOROVIĆ¹, Dragana
DESPOT²**

1 Prof. dr Milutin Đorđević, prof. dr Brana Radenković Damnjanović, prof. dr Ljiljana Janković, prof. dr Radislava Teodorović; Katedra za zoohigijenu, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Srbija

2 Dr vet. med. Branislav Pešić, dr Dragana Despot spec. urg. med.; Zavod za biocide i medicinsku ekologiju, Beograd, Srbija

* Korespondentni autor: Milutin Đorđević, imejl: milutin@vet.bg.ac.rs

Kratak sadržaj: Fazanerije predstavljaju proizvodne objekte poluzatvorenog tipa sa nekoliko proizvodnih celina koje su ciklično povezane i u kojima se gaje jedinke različitih starosnih kategorija. Proizvodne celine čine volijera za matično jato, prostorija za skladištenje jaja, inkubatorska stanica, prostorije za odgoj mladih fazana i volijere sa ispuštima gde se vrši odgoj fazana do momenta ispuštanja u lovište. Vodeći računa o prethodno navedenom, a u cilju postizanja dobrih proizvodnih rezultata, sa dobijanjem jedinki dobrog zdravstvenog statusa, za uspešnu farmsku proizvodnju fazanske divljači, neophodno je kontinuirano sprovođenje biosigurnosnih mera u svim fazama tehnološkog postupka proizvodnje. Jedna od ključnih biosigurnosnih mera, koja se mora kontinuirano sprovoditi u farmskim objektima, jeste dezinfekcija. U radu je praćen efekat sprovedene dezinfekcije u različitim fazama proizvodnje, na različitim površinama, primenom rastvora preparata na bazi persirćetne kiseline i para formaldehida. Praćenjem mikrobiološkog statusa površina u okviru proizvodnih celina ustanovljena je redukcija ukupnog broja bakterija, gljivica i plesni u manjem ili većem obimu u zavisnosti od mesta uzorkovanja i vrste proizvodne celine.

Ključne reči: fazanerija, dezinfekcija, persirćetna kiselina, formaldehid, mikrobiološki status

* Rad je prezentovan na 22. Godišnjem savjetovanju doktora veterinarske medicine Republike Srpske/BiH sa međunarodnim učešćem, Teslić 2017. godine

UVOD

Očuvanje brojnosti fazana u prirodi, atraktivnost lova fazana, kako poligonskog tako i lova u otvorenim lovištima, uslovio je potrebu povećanja obima proizvodnje na fazanerijama. Uspešnost farmske proizvodnje fazana uslovljena je poštovanjem određenih tehnoloških normativa i kontinuiranim sprovođenjem neophodnih biosigurnosnih mera u skladu sa biosigurnosnim protokolom, u cilju dobijanja vitalnih jedinki dobrog zdravstvenog statusa. (Anon, 2012; Đorđević, 2009)

Fazanerije predstavljaju specifične farmske objekte koji se sastoje od nekoliko proizvodnih celina, gde se unutar farmaskog objekta vrši istovremeni uzgoj jedinki različitih starosnih kategorija. Sa aspekta zdravstvenog rizika po jedinke, ovakav način farmaskog uzgoja fazana predstavlja veliki zdravstveni rizik, jer se unutar jednog ekonomskog dvorišta nalazi više starosnih kategorija, što uslovljava potrebu kontinuiranog sprovođenja biosigurnosnih mera koje se definišu biosigurnosnim protokolom, uz stalno praćenje zdravstvenog statusa jedinki u različitim fazama proizvodnje (Pavlović, Floristean, 2004). Ispitivanje efekata sprovedene dezinfekcije vršeno je u sledećim proizvodnim celinama: volijera za matično jato, prostorija za skladištenje jaja, inkubatorska stanica, prostorije za odgoj mladih fazana, volijere sa ispuštima gde se vrši odgoj fazana (2–6 nedelja) i volijera sa ispuštima za odgoj fazana od 6 nedelja

starosti do momenta ispuštanja u lovište.

Pored redovnog održavanja higijene objekata i opreme, dezinfekciji se pridaje veliki značaj, jer predstavlja najbolji vid redukcije mikroorganizama koji se održavaju u ovim objektima (Ilić et al., 2008; Matković, Matković, 2006). U tabeli 1. smo prikazali najčešće korišćene dezinficijense u farmskim objektima za uzgoj živine, kao i njihova dezinfekciona svojstva. Većina dezinficijensa koji su navedeni u tabeli 1. ispoljava baktericidno, fungicidno i virulicidno dejstvo, što ih čini efikasnim za primenu u specifičnim uslovima farmske proizvodnje fazana. Literaturni podaci o primeni dezinficijensa u farmskom uzgoju fazana su dosta skromni.

Ispitivanje efikasnosti navedenih dezinfekcionih sredstava najlakše i najefikasnije se proverava uzimanjem briseva sa tretiranih površina pre i nakon sprovedene dezinfekcije. Na samu efikasnost sprovedene dezinfekcije znatno utiče, pored izbora adekvatnog dezinfekcionog sredstva, i priprema kojom se odstranjuju nečistoće organskog i neorganskog porekla, a koje, ukoliko se ne uklone, za posledicu imaju umanjenje efekata primenjenih dezinfekcionih sredstava.

Prilikom sprovođenja dezinfekcije mora se voditi računa o tome da mikroorganizmi vremenom postaju otporni na primenjena dezinfekciona sredstva, naročito ako se ona primenjuju nekontrolisano i uz neadekvatno

doziranje, kao i usled neadekvatnog postupanja sa njima.

U radu iznosimo analizu efekata dva dezinfekciona preparata (na bazi

persirćetne kiseline i formaldehida) na različitim površinama u različitim fazama proizvodnje fazana u farmskim uslovima.

MATERIJAL I METODE RADA

Nakon završetka i pre početka novog proizvodnog ciklusa, svi objekti – proizvodne celine i oprema u njima su, shodno definisanom biosigurnosnom protokolu, mehanički očišćeni korišćenjem standardne opreme (metle, četke i sl.) od vidljivih nečistoća i oprani toplom vodom (do 56°C). Nakon završenog mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja svih objekata, sprovedeno je krećenje svih proizvodnih celina, dok su podovi tretirani 2% vodenim rastvorom dezinficijensa na bazi persirćetne kiseline pomoću motorne prskalice, oprema (hranilice, pojilice, baterije, kasete za jaja) je dezinfikovana potapanjem u 2% vodeni rastvor dezinficijensa na bazi persirćetne kiseline. Zemljane površine u volijerama tretirane su 3% vodenim rastvorom dezinficijensa na bazi persirćetne kiseline korišćenjem motorne prskalice. Dezinfekcija inkubatora i valjaonika nakon čišćenja i pranja rađena je formalinskim parama (na 1 m³ prostora korišćeno je 60 ml formaldehida i 40 gr hipermangana). Kartonske kutije za transport jaja (kartonke) i slama-prostirka dezinfikovane su formalinskim parama. Rađena je fumigacija slame pre unošenja u objekat za držanje matičnog jata i objekat za uzgoj kod fazančića 2–6 nedelja starosti. Formalinske pare su

ostavljane da deluju 30 minuta, a zatim su prostorije, inkubatori, valjaonici, skladišta za kartonke, kao i prostorije u kojima je rađena fumigacija slame dobro provetravane.

Utvrdjivanje mikrobiološkog statusa vršeno je na površinama u proizvodnim celinama i to na zidovima i podovima, na opremi (hranilice, pojilice, kasete za jaja, baterije), na kartonkama za jaja i u prostoriji za skladištenje jaja, u unutrašnjosti inkubatora i valjaonika, zatim sa zemljanih površina volijera i prostirke. Svi uzorci su uzimani metodom slučajnog izbora i sa svake površine je uzimano po 5 briseva. Za utvrđivanje mikrobiološkog statusa su uzimani brisevi sa navedenih površina korišćenjem komercijalnih sterilnih briseva koji su prethodno nakvašeni sterilnim fiziološkim rastvorom. Pomoću plastičnog šablona (10x10cm) uzimani su brisevi uvek sa iste površine, koja je odabrana metodom slučajnog izbora, pre i 30 minuta nakon urađene dezinfekcije. Brisevi zemljanih površina unutar ispusta volijera su uzimani pomoću nazuvica koje su stavljane na obuću prilikom ulaska u volijeru i skidane pre izlaska iz iste. Uzorkovanje zemljišta iz volijera je vršeno sa 5cm dubine radi detekcije prisustva anaeroba.

Provera mikrobiološkog statusa proizvodnog objekta matičnog jata urađena je pre početka pronošenja jaja. Brisevi su uzeti sa površina hranilica, pojilica, zidova i poda objekta za smeštaj matičnog jata, kao i zemljišta u volijeri pomoću nazuvica, po prethodno definisanoj proceduri. Pre i nakon sprovedene fumigacije uzeto je po 5 uzoraka slame u cilju provere njenog bakteriološkog i mikološkog statusa. Iz prostorije za skladištenje jaja uzeti su brisevi sa površina zida i poda unutrašnjosti objekta i brisevi sa kaseta i kartonki za jaja. Iz inkubatorske stanice uzeti su brisevi sa površina zida i poda prostorije u kojoj su smešteni inkubatori, kao i brisevi unutrašnjosti svakog inkubatora i kaseta za jaja. Iz prostorije u kojoj su smešteni valjaonici uzeti su brisevi sa površina zida i poda prostorije u kojoj su smešteni valjaonici, sa unutrašnjosti svakog valjaonika, kao i sa kaseta za jaja unutar svakog valjaonika.

U objektima za uzgoj fazančića do 2 nedelje starosti uzeti su brisevi sa površina zidova i poda prostorije i sa površina praznih baterija. U objektima za smeštaj fazančića 2–6 nedelja starosti, kao i u objektima od 6 nedelja starosti do ispuštanja u lovište uzeti su brisevi sa površina zidova, hranilica i pojilica, kao i zemljišta u volijeri pomoću nazuvica, po prethodno definisanoj proceduri.

Nakon uzorkovanja brisevi su stavljeni u ručni frižider i transportovani do laboratorije. U laboratorijskim uslovima vršeno je utvrđivanje brojnosti bakterija,

ispitivane su kulturalne osobine i vršena je detekcija enterobakterija, salmonela, anaeroba, gljivica i plesni. Obrada briseva je rađena tako što su oni homogenizovani nekoliko minuta u 10ml slanog rastvora uz dodatak 1% peptona odakle su pravljena razređenja. Ukupan broj bakterija je rađen u seriji razređenja od 1:10 do 1:10 000 000 na podlozi za ukupan broj bakterija.

Detekcija enterobakterija rađena je na hranljivom agaru sa dodatkom 5% ovčije krvi, Brilliant zeleni laktoza žučnom bujonu, Endo agaru i McConkey agaru za enterobakterije.

Potencijalno prisustvo salmonela je rađeno na podlogama za preobogaćenje – puferisana peptonska voda (Bio Merieux, Francuska) i inkubirane su 18–24 h na 37⁰ C. Zatim je 0,2 ml prebačeno na podlogu za selektivno obogaćenje Rappaport Vasilliadis (HiMedia) na 41,5⁰ C i Selenit cistein bujon na 37⁰ C u toku 18–24h. Nakon inkubacije 0,1ml tečne kulture je zasejana na XLD, McConkey agaru i Brilijant zelenom agaru (Himedia). Podloge su potom inkubirane na 37⁰C u trajanju od 24h nakon čega su pregledane na prisustvo kolonija koje odgovaraju *Salmonella spp.* Identifikacija bakterija rađena je ispitivanjem kulturalnih, makro i mikro-morfoloških osobina i biohemijskih aktivnosti primenom standardnih i komercijalnih testova. Za potvrdu identifikacije korišćen je BBL Crystal sistem (Becton Dickinson, USA). Utvrđivanje prisustva anaerobnih bakterija rađeno je na Tarozzi bujonu i Zeissler agaru tako što su uzorci zemlje

(1gr uzorka u 9 ml fiziološkog rastvora) zasejani u razređenju od 1 : 100 – 1 : 1 000 000 na sulfitnom agaru (HiMedia). Konačna identifikacija anaerobnih bakterija rađena je sa BBL Crystal

Anaerobes ID Kit (Becton Dickinson, USA).

Ukupan broj i determinacija gljivica i plesni rađena je na Sabouraud agaru u seriji razređenja od 1:10 do 1:10 000 000.

REZULTATI I DISKUSIJA

U tabelama 1. i 2. prikazana su mesta uzorkovanja unutar proizvodnih celina i oprema, sa kojih su uzimani brisevi po prethodno definisanoj proceduri,

kao i prosečan broj i vrste bakterija, gljivica i plesni pre i nakon sprovedene dezinfekcije.

Tabela 1. Rezultati bakteriološke pretrage

Mesto uzimanja uzoraka	Prosečan broj bakterija pre dezinfekcije	Prosečan broj bakterija posle dezinfekcije
Objekat za smeštaj matičnog jata:		
Zid objekata	3×10^6 saprofiti	4×10^3 saprofiti
Pod objekta	2×10^8 saprofiti	3×10^4 saprofiti
Hranilice	5×10^7 saprofiti	4×10^3 saprofiti
Pojilice	3×10^6 saprofiti	0
Prostirka	mali broj, saprofiti	0
Zemljište volijjere	3×10^6 koliforma, saprofiti	3×10^3 saprofiti
Prostorija za skladištenje jaja:		
Zid objekta	7×10^5 saprofiti	2×10^1 saprofiti
Pod objekta	4×10^6 saprofiti	3×10^2 saprofiti
Kaseta za jaja	3×10^5 koliformi, saprofiti	1×10^2 saprofiti
Kartoni za jaja	7×10^5 koliformi, saprofiti	3×10^3 koliformi, saprofiti
Jaja	1×10^3 saprofiti	0
Inkubatorska stanica:		
Zid objekta	2×10^5 saprofiti	1×10^2 saprofiti
Pod objekta	3×10^6 saprofiti	2×10^2 saprofiti
Unutrašnjost inkubatora	4×10^3 saprofiti	0
Kasete za jaja	3×10^5 koliformi, saprofiti	0

Valjaonici:		
Zid objekta	3×10^5 saprofiti	4×10^1 saprofiti
Pod objekta	2×10^6 saprofiti	4×10^2 saprofiti
Unutrašnjost valjaonika	5×10^2 saprofiti	0
Kasete za jaja	2×10^4 saprofiti	0
Objekat za smeštaj fazančića do 2 nedelje starosti:		
Zid objekta	6×10^6 saprofiti	3×10^3 saprofiti
Pod objekta	4×10^7 saprofiti	4×10^3 saprofiti
Površine praznih baterija	2×10^4 saprofiti	1×10^2 saprofiti
Objekat za smeštaj fazančića 2–6 nedelja starosti		
Zid objekta	2×10^6 saprofiti	4×10^3 saprofiti
Pod objekta	3×10^7 saprofiti	2×10^4 saprofiti
Hranilice	5×10^7 koliformi, saprofiti	2×10^4 saprofiti
Pojilice	3×10^6 saprofiti	0
Zemljani pod volijere	3×10^5 koliformi, saprofiti	4×10^3 saprofiti
Objekat za smeštaj fazančića starijih od 6 nedelja:		
Zid objekta	7×10^5 saprofiti	3×10^2 saprofiti
Pod objekta	2×10^6 saprofiti	3×10^4 saprofiti
Hranilice	3×10^7 saprofiti	6×10^4 saprofiti
Pojilice	3×10^4 saprofiti	2×10^2 saprofiti
Zemljani pod volijere	4×10^6 koliformi, saprofiti	3×10^3 saprofiti

Tokom eksperimenta od koliformnih bakterija izolovane su *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* i *Enterococcus spp.*, a od saprofitskih najveći broj su činile različite vrste *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.* i -hemolitičnih *Streptococcus spp.*

Na osnovu dobijenih rezultata koji su prikazani u tabeli 1. uočava se da je došlo do smanjenja broja bakterija na svim uzetim brisevima nakon sprovedene dezinfekcije preparatima na bazi persirćetne kiseline i formaldehida.

Nakon sprovedene dezinfekcije, na brisevima nije utvrđeno prisustvo koliformnih bakterija, osim kod briseva skinutih sa kartonki za jaja, gde je i ukupan broj bakterija i nakon dezinfekcije ostao i dalje visok. Navedena pojava se objašnjava lošom praksom u prethodnom periodu, gde je primenjivana višekratna upotreba kartonki za jaja. U skladu sa dobijenim rezultatima, u biosigurnosnom protokolu je zabranjena višekratna primena kartonki za jaja.

Saprofitne bakterije koje su izolovane iz briseva nakon sprovedene dezinfekcije bile su uglavnom pripadnici roda *Bacillus*. Navedeni rezultati se objašnjavaju pojavom da pripadnici roda *Bacillus* u nepovoljnim uslovima sredine formiraju spore koje su znatno otpornije na delovanje primenjenog dezinfekcionog sredstva od vegetativnih oblika. U skladu sa navedenim, neophodno je kontinuirano sprovoditi higijenske

mere, sa kontinuiranim sprovođenjem dezinfekcije u cilju smanjenja broja mikroorganizama, čime se smanjuje rizik od pojave potencijalnih patogena.

Površine na kojima je bilo moguće kvalitetno sprovesti mere mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja su nakon sprovedene dezinfekcije dale najbolje rezultate i na njima nije utvrđeno prisustvo bakterija ili je ono utvrđeno sporadično.

Tabela 2. Rezultati mikološke pretrage

Mesto uzimanja uzoraka	Prosečan broj gljivica i plesni pre dezinfekcije	Prosečan broj gljivica posle dezinfekcije
Objekat za smeštaj matičnog jata:		
Zid objekta	2×10^6 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Pod objekta	3×10^7 <i>Aspergillus spp.</i>	3×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Hranilice	4×10^5 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Pojilice	2×10^3 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Aspergillus spp.</i>
Prostirka	7×10^8 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^2 <i>Aspergillus spp.</i>
Zemljani pod volijere	5×10^4 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^2 <i>Aspergillus spp.</i>
Prostorija za skladištenje jaja:		
Zid objekta	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Pod objekta	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Kaseta za jaja	6×10^5 <i>Penicillium spp. Aspergillus spp.</i>	0
Kartoni za jaja	8×10^7 <i>Penicillium spp. Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	5×10^4 <i>Aspergillus spp.</i>
Jaja	3×10^3 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Inkubatorska stanica:		
Zid objekta	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Pod objekta	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0

Unutrašnjost inkubatora	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Kasete za jaja	5x10 ⁴ <i>Penicillium spp. Aspergillus spp.</i>	0
Valjaonici:		
Zid objekta	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Pod objekta	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Unutrašnjost valjaonika	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Kasete za jaja	2x10 ² <i>Mucor spp.</i>	0
Objekat za smeštaj fazančića do 2 nedelja starosti:		
Zid objekta	4x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Mucor spp.</i>
Pod objekta	4x10 ⁵ <i>Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Aspergillus spp.</i>
Površine praznih baterija	2x10 ⁵ <i>Aspergillus spp.</i>	0
Objekat za smeštaj fazančića 2–6 nedelja starosti:		
Zid objekta	5x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Pod objekta	5x10 ⁷ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Hranilice	1x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	7x10 ² <i>Aspergillus spp.</i>
Pojilice	4x10 ³ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Zemljani pod volijere	5x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	3x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Objekat za smeštaj fazančića starijih od 6 nedelja:		
Zid objekta	3x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Pod objekta	3x10 ⁸ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	6x10 ⁴ <i>Aspergillus spp.</i>
Hranilice	4x10 ⁵ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	1x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Pojilice	2x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Zemljani pod volijere	1x10 ⁸ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	3x10 ⁴ <i>Aspergillus spp.</i>

Iz tabele 2. može se videti da je nakon sprovedene dezinfekcije uočen značajan pad broja plesni. Nalaz malog broja gljivica i plesni pre dezinfekcije u inkubatoru i valjaoniku može se objasniti samim materijalom od kojeg su napremljeni, a koji po

svojim karakteristikama, uz adekvatno održavanje nisu pogodni za rast gljivica i plesni.

Površine zidova i podova u objektima u kojima je smešteno matično jato su shodno tehnološkom postupku proizvodnje stvarale određene probleme u realizaciji mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja pre sprovođenja samog postupka dezinfekcije, usled prisustva životinja. Dodatni problem uočen je u korišćenju hranilica sagrađenih od drvenih materijala i nesprovođenju svakodnevog pranja i dezinfekcije hranilica i pojlica. U toku kontrole, nakon sprovedene dezinfekcije, ustanovljeno je i dalje

prisustvo značajnog broja plesni iz roda *Aspergillus*, dok je iz briseva uzetih nakon dezinfekcije utvrđeno pretežno prisustvo vrste *Aspergillus flavus*, uz značajno smanjenje prisustva ostalih pripadnika ovog roda, što se između ostalog može objasniti većom otpornošću spora *Aspergillus spp.* i prethodno definisanim problemima. Uvođenjem svakodnevog pranja i dezinfekcije pojilica postignuti su zadovoljavajući rezultati u redukciji mikroorganizama, a problem prisustva istih i nakon sprovedene dezinfekcije na drvenim hranilicama mora biti rešen isključivanjem drvenih hranilica iz upotrebe i primenom hranilica od materijala koji se lako mogu prati i dezinfikovati.

ZAKLJUČAK

Analizom mikrobiološkog statusa pre i nakon sprovedene dezinfekcije, možemo zaključiti da primena dezinficijensa na bazi persirćetne kiseline pokazuje zadovoljavajuće efekte na površinama koje su zbog svojih karakteristika mogle biti adekvatno pripremljene za dezinfekciju primenom mehaničkog čišćenja i sanitarnog pranja. Na površinama na kojima nije bilo moguće sprovesti adekvatno čišćenje i sanitarno pranje, kao što su drvene hranilice, rezultati sprovedene dezinfekcije nisu bili zadovoljavajući. Iz ovog razloga je neophodno koristiti hranilice i pojilice koje su napravljene od materijala koji se lako mogu prati i dezinfikovati, čime se omogućava kontinuirano sprovođenje dezinfekcije kao biosigurnosne mere.

Uočeni problem povećanog broja m.o. na kartonkama za jaja može se rešiti jednokratnim korišćenjem kartonki za jaja, uz njihovu predhodnu dezinfekciju, po prethodno definisanoj proceduri, korišćenjem formalinskih para, uz sprovođenje svih mera zaštite lica koja sprovode dezinfekciju.

Primenjena dezinfekciona sredstva na bazi persirćetne kiseline i formaldehida ispoljila su zadovoljavajuće efekte, a uvažavajući činjenicu da se radi o biocidnim proizvodima sa prihvatljivom cenom i jednostavnim načinom aplikacije, oni se mogu preporučiti za praktičnu primenu u dezinfekciji fazanerija na površinama koje su prethodno adekvatno pripremljene.

LITERATURA

1. Annon (2012: Biosecurity procedures in poultry production, OIE - Terrestrial Animal HealthCode,Appendix6.4.1.,http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2010/en_chapitch_1.6.4.htm
2. Ђорђевић М. (2009): Biosigurnosne mere u fazanerijama, Zbornik radova XIX savetovanje, Dezinfekcija, dezinsekcija i deratizacija u zaštiti životne sredine.
3. Ilić Z., Jakic Dimic D., Pavlovic I., Zugic G., Gavrilovic M. (2008): Efficacy of same antimicrobial substance at Salmonella microorganisms isolated in poultry breeding objects 1stMediterranean Summit of WPSA, Tthessaloniki, Greece, 07–10.
4. Matković K., Matković S. (2006): Važnost čišćenja i dezinfekcije u peradarstvu, Znanstveno stručni dio, Vol. VII, 95–99, 2006.
5. Pavlović I., Floristean I. (2004): Fazani – odgoj i zdravstvena zaštita (3), Biologija i fiziološke karakteristike (I). Živinarstvo, XXXIX(11), 12–13, 2004.

Rad je primljen: 18.6.2017.

Rad je prihvaćen: 15.4.2018.

DOI: 10.7251/VETJ1801241D

UDK: 614.48:636.083

Original scientific paper

ANALYSIS OF THE EFFECTS OF DISINFECTION OF THE SURFACES AND EQUIPMENT IN DIFFERENT PRODUCTION UNITS ON A PHEASANT FARM BY THE APPLICATION OF PARACETIC ACID AND FORMALDEHYDE BASED SOLUTIONS

Milutin ĐORĐEVIĆ^{1*}, Branislav PEŠIĆ², Brana RADENKOVIĆ DAMNJANOVIĆ¹, Ljiljana JANKOVIĆ¹, Radislava TEODOROVIĆ¹, Dragana DESPOT²

1 Prof.dr Milutin Đorđević, prof. dr. Brana Radenković Damnjanović, prof. dr Ljiljana Janković, prof. dr Radislava Teodorović Department of Zoohygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade;, Srbija

2 Dr vet. med. Branislav Pešić, dr Dragana Despot spec. urg. Med; Institute for biocides and medical ecology Beograd, Srbija

* Corresponding author: Milutin Đorđević, e-mail: milutin@vet.bg.ac.rs

Abstract: Pheasant farms represent semi-closed production facilities with several production units that are cyclically connected and are used for growing pheasants of different age categories. Production units consist of an aviary for parent stock, egg storage room, incubation station, facilities for raising young pheasants and open aviaries where pheasants are raised till their release on hunting areas. Continuous implementation of biosafety measures at all stages of the technological process of production is necessary in order to achieve good production results ; that is raising healthy pheasants. Disinfection is one of the most important biosigurative measures which must be continually implemented in farm facilities. In this paper, the effect of disinfection with peracetic acid and paraformaldehyde based solutions has been monitored at different stages of production, and on different surfaces. Monitoring of the microbiological status of the area within the production facility resulted in reduction of the total number of bacteria, fungi and mold in a smaller or greater extent depending on the place of sampling and type of a production unit.

Key words: pheasant farm, disinfection, peracetic acid, formaldehyde, microbiological status

* The paper is presented at the 22nd Annual Conference of Doctors of Veterinary Medicine from Republika Srpska / BH with international participation, Teslic, 2017

INTRODUCTION

Preservation of the number of pheasants in nature and attractiveness of pheasant hunting necessitated the need to increase production volumes on pheasant farms. Uspešnost farmske proizvodnje fazana uslovljena je poštovanjem određenih tehnoloških normativa i kontinuiranim sprovođenjem neophodnih biosigurnosnih mere u skladu sa biosigurnosnim protokolom, u cilju dobijanja vitalnih jedinki dobrog zdravstvenog statusa. (Anon, 2012; Đorđević, 2009) Pheasant farms represent specific farm facilities, which consist of several production units, where a simultaneous breeding of pheasants of different age group is carried out. When it comes to health risk, this type of farms represent a great health risk because there are several age classes within a single commercial yard, which requires the need for continuous implementation of biosafety measures defined by the biosafety protocol, with constant monitoring of the health status of individuals at different stages of production (Pavlović, Floristean, 2004). Testing of the effect of disinfection was carried out in the following production units: aviary for parental stock, egg storage room, incubation station, facilities for raising young pheasants, open aviaries for keeping 2-6 weeks old pheasants as well as open aviaries for keeping pheasant from 6 weeks of age to the moment of releasing them into the hunting area.

In addition to the regular maintenance of hygiene of facilities and equipment, disinfection is of great importance because it represents the best way of reducing the microorganisms in these facilities (Ilić et al., 2008; Matković, Matković, 2006)

In Table 1 we show the most commonly used disinfectants in facilities in poultry farming as well as their disinfection properties. Most disinfectants listed in Table 1 exhibit bactericidal, fungicidal and virulicidal effects, which makes them effective for application in specific conditions of pheasants farms. In literature, there is no much information about use of disinfectants on farms.

The efficacy of these disinfectants is most easily and effectively checked by taking swabs from treated surfaces before and after disinfection. The effectiveness of the disinfection is significantly influenced by the selection of an adequate disinfectant and preparation that removes impurities of organic and inorganic origin, which, if not removed, result in the reduction of the effects of the applied disinfectants.

If disinfectants are applied uncontrollably or in inadequate doses microorganisms over time become resistant to applied disinfectant agents.

The paper analyzes the effects of two disinfectants (persacetic acid based and formaldehyde based ones) on different surfaces in different stages of production.

MATERIAL AND METHODS OF WORK

Upon completion and before the start of a new production cycle, all facilities-production units and equipment were mechanically cleaned from visible impurities and washed with warm water (up to 56°C) using standard equipment (brooms, brushes, etc.) in accordance with the defined biosafety protocol. After the mechanical cleaning and sanitary washing of all facilities had been completed, all production units were painted, while the floors were treated with 2% aqueous disinfectant solution based on peracetic acid using motor sprayer, while equipment (feeders, water troughs, batteries, egg crates) was disinfected by immersion in 2% aqueous solution of peracetic acid disinfectant.

Ground surfaces in aviaries were treated with a 3% aqueous solution of peracetic acid based disinfectant using a motor sprayer. After cleaning and washing, disinfection of the incubators and the hatcheries was done with formalin vapor (60 ml of formaldehyde and 40 g of Potassium permanganate were used per 1 m³ of space). Carton boxes for transporting eggs (cardboards) and straw mats were disinfected with formalin vapor. Straw had been fumigated before it was put in the aviary for parent stock and the aviary for breeding 2-6 weeks old pheasants. Formal vapors were left for 30 minutes, after which rooms, incubators, hatcheries, cardboard storages, and rooms in which straw was fumigated were well-ventilated.

Determination of microbiological status was carried out on surfaces in production areas, that is on walls and floors, equipment (feeders, water troughs, egg crates, batteries), egg cartons and eggs storage facilities, incubators and hatcheries, interior of incubators and mats. All the samples were taken randomly and 5 swabs were taken from each surface. In order to determine the microbiological status, swabs from the surfaces were taken using commercial sterile swabs presoaked with sterile saline. Using a plastic template (10x10cm), the swabs were taken from the same surface selected randomly 30 minutes before and after the disinfection. The swabs from ground surfaces were taken by using shoe covers that were put on when entering the aviary and taken off before leaving it. Sampling of the soil from the aviary was carried with sampling depth of 5 cm to detect the presence of anaerobes. Checking the microbiological status of the production site was done before the eggs were hatched. The swabs were taken from the surfaces of feeders, water troughs, walls and floor of the aviary as well as the from the ground in the aviaries using shoe covers according to the previously defined procedure. Before and after the fumigation was carried out, 5 samples of straw were taken in order to check the bacteriological and mycological status. From the egg storage rooms, swabs were taken from the surfaces of the wall, the floor, egg crates and egg cartons. Swabs

from the surface of the wall and floor of the facility in which incubators were placed were also taken, as well as the swabs of each incubator and egg crates. Likewise, swabs from the surface of the wall and floor of the facility in which hatchers were placed were taken, as well as the swabs of each hatcher and each egg crate in a hatcher.

In the aviaries for breeding pheasants up to 2 weeks of age, swabs were taken from the walls and the floor, as well as from the surfaces of empty batteries using shoe covers in accordance with previously defined procedure. Swabs were also taken from the walls, feeders, water troughs and soil in the aviaries for breeding pheasants that are 2-6 weeks of age, as well as in the aviaries in which 6 weeks old pheasants are kept till being released into the hunting area

After sampling, the swabs were placed in a hand-held refrigerator and transported to the laboratory. In the laboratory conditions, bacterial counts were determined, cultural characteristics were examined and the detection of enterobacteria, salmonella, anaerobic, fungi and mold was performed. Swab processing was done by homogenizing them for several minutes in a 10ml saline solution with the addition of 1% peptone from which dilutions were made.

The total number of bacteria was made in the dilution series from 1:10 to 1:10 000 000 in the medium for total number of bacteria.

Detection of enterobacteria was done

by using a nutritent agar with 5% sheep blood, brilliant green bile lactose broth, endo agar and McConkey agar.

The potential presence of salmonella was carried out in pre-enrichment medium - buffered pepton water (Bio Merieux, France) and incubated for 18-24 h at 37°C. Then 0.2 ml was transferred to selective enrichment medium Rappaport Vasiliadis (HiMedia) at 41, 50°C and Selenite cysteine broth at 37°C during 18-24h. After incubation, 0.1 ml of liquid culture was seeded on XLD, McConkey agar and Brilliant green agar (Himedia). The substrates were then incubated at 37°C for 24h after which they were examined for the presence of colonies corresponding to *Salmonella* spp. Identification of bacteria was done by testing cultural, macro and micro-morphological characteristics and biochemical activities by standard and commercial tests. BBL Crystal System (Becton Dickinson, USA) was used to confirm identification.

Determination of the presence of anaerobic bacteria was done on the Tarozzi broth and Zeissler agar by seeding soil samples (1g sample in 9 ml of saline) in a dilution of 1: 100 - 1: 1 000 000 on a sulphite agar (HiMedia). The final identification of anaerobic bacteria was done with the BBL Crystal Anaerobes ID Kit (Becton Dickinson, USA). The total number and determination of fungi and mold was done on Sabouraud agar in a dilution series of 1:10 to 1:10 000 000.

RESULTS AND DISCUSSION

Tables 1 and 2 show the sampling points within the production units and equipment from which swabs

were taken according to the previously defined procedure, as well as the average number and type of bacteria, fungi and mold before and after disinfection.

Table 1. Results of bacteriological tests

Place of sampling	Average number of bacteria before disinfection	Average number of bacteria after disinfection
Facility for parent stock		
Wall	3×10^6 saprophytes	4×10^3 saprophytes
Floor	2×10^8 saprophytes	3×10^4 saprophytes
Feeders	5×10^7 saprophytes	4×10^3 saprophytes
Water troughs	3×10^6 saprophytes	0
Mat	small number,, saprophytes	0
Ground of the aviary	3×10^6 coliform, saprophytes	3×10^3 saprophytes
Room for egg storage:		
Wall	7×10^5 saprophytes	2×10^1 saprophytes
Floor	4×10^6 saprophytes	3×10^2 saprophytes
Egg crate	3×10^5 coliform, saprophytes	1×10^2 saprophytes
Egg cartons	7×10^5 coliform, saprophytes	3×10^3 coliform, saprophytes
Eggs	1×10^3 saprophytes	0
Incubation station:		
Wall	2×10^5 saprophytes	1×10^2 saprophytes
Floor	3×10^6 saprophytes	2×10^2 saprophytes
Interior of the incubator	4×10^3 saprophytes	0
Egg crates	3×10^5 coliform, saprophytes	0
Hatchers		
Wall	3×10^5 saprophytes	4×10^1 saprophytes
Floor	2×10^6 saprophytes	4×10^2 saprophytes
Interior of hatchers	5×10^2 saprophytes	0
Egg crates	2×10^4 saprophytes	0
Facility for 2 weeks old pheasants		

Wall	6x10 ⁶ saprophytes	3x10 ³ saprophytes
Floor	4x10 ⁷ saprophytes	4x10 ³ saprophytes
Surfaces of empty batteries	2x10 ⁴ saprophytes	1x10 ² saprophytes

Facility for 2 - 6 weeks old pheasants

Wall	2x10 ⁶ saprophytes	4x10 ³ saprophytes
Floor	3x10 ⁷ saprophytes	2x10 ⁴ saprophytes
Feeders	5x10 ⁷ coliform, saprophytes	2x10 ⁴ saprophytes
Water troughs	3x10 ⁶ saprophytes	0
Earthen floor in the aviary	3x10 ⁵ coliform , saprophytes	4x10 ³ saprophytes

Facility for pheasants older than 6 weeks

Wall	7x10 ⁵ saprophytes	3x10 ² saprophytes
Floor	2x10 ⁶ saprophytes	3x10 ⁴ saprophytes
Feeders	3x10 ⁷ saprophytes	6x10 ⁴ saprophytes
Water troughs	3x10 ⁴ saprophytes	2x10 ² saprophytes
Earthen floor in the aviary	4x10 ⁶ coliform, saprophytes	3x10 ³ saprophytes

During the experiment , when it comes to the species of coliform bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterococcus* spp., were isolated, while most of the saprophytes were different types of *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp. and -hemolytic *Streptococcus* spp.

On the basis of the results obtained in Table 1, it is noted that there has been a decrease in the number of bacteria on all swabs after disinfection with persistent acid and formaldehyde based preparations. After the disinfection carried out on swabs, the presence of coliform bacteria has not been established, except for swabs taken from egg cartons, where the total number of bacteria remained high after disinfection. This is explained by poor

practice in the previous period, where reusable use of egg cartons was applied.

Saprophytic bacteria that were isolated from the swabs after the disinfection were mainly members of the genus *Bacillus*. These results are explained by the fact that members of the genus *Bacillus*, in adverse environmental conditions, form spores that are significantly more resistant to the activity of the applied disinfectant than vegetative forms. Because of this it is necessary to continuously implement hygienic measures, with continuous disinfection in order to reduce the number of microorganisms, thereby reducing the risk of emergence of potential pathogens.

The areas where it was possible to carry out quality mechanical cleaning and sanitary washing measures after the disinfection gave the best results and did not determine the presence of bacteria or it was determined sporadically.

Table 2. Results of mycological testing

Place of sampling	Prosećan broj gljivica i plesni pre dezinfekcije	Prosećan broj gljivica posle dezinfekcije
Facility for parent flock		
Wall	2×10^6 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Floor	3×10^7 <i>Aspergillus spp.</i>	3×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Feeders	4×10^5 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2×10^3 <i>Aspergillus spp.</i>
Water troughs	2×10^3 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Aspergillus spp.</i>
Mat	7×10^8 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^2 <i>Aspergillus spp.</i>
Earthen floor in the aviary	5×10^4 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4×10^2 <i>Aspergillus spp.</i>
Facility for egg storage		
Wall	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Floor	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Egg crates	6×10^5 <i>Penicillium spp. Aspergillus spp.</i>	0
Egg cartons	8×10^7 <i>Penicillium spp. Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	5×10^4 <i>Aspergillus spp.</i>
Eggs	3×10^3 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Incubation station:		
Wall	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Floor	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Interior of the incubator	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Egg crates	5×10^4 <i>Penicillium spp. Aspergillus spp.</i>	0
Hatchers		
Wall	>100 <i>Mucor spp.</i>	0

Floor	>100 <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Interior of hatcher	>100 <i>Mucor spp.</i>	0
Egg crates	2x10 ² <i>Mucor spp.</i>	0

Facility for 2 weeks old pheasants

Wall	4x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Mucor spp.</i>
Floor	4x10 ⁵ <i>Aspergillus spp.</i>	>100 <i>Aspergillus spp.</i>
Surfaces of empty batteries	2x10 ⁵ <i>Aspergillus spp.</i>	0

Facility for 2-4 weeks old pheasants

Wall	5x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Floor	5x10 ⁷ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	4x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Feeders	1x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	7x10 ² <i>Aspergillus spp.</i>
Water troughs	4x10 ³ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Earthen floor in the aviary	5x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	3x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>

Facility for pheasants older than 6 weeks

Wall	3x10 ⁶ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	2x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Floor	3x10 ⁸ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	6x10 ⁴ <i>Aspergillus spp.</i>
Feeders	4x10 ⁵ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	1x10 ³ <i>Aspergillus spp.</i>
Water troughs	2x10 ⁴ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	0
Earthen floor in the aviary	1x10 ⁸ <i>Mucor spp. Aspergillus spp.</i>	3x10 ⁴ <i>Aspergillus spp.</i>

In Table 2 it can be seen that after the disinfection, a significant drop in the number of mold was detected. The finding of a small number of fungi and mold before disinfection in the incubator and the hatcher can be explained by the material of which they are made as with proper maintenance it is not suitable for the growth of fungi and mold.

The surfaces of walls and floors in the facility where the parent flock was

located created certain problems in the realization of mechanical cleaning and sanitary washing before the disinfection procedure, due to the presence of animals. An additional problem was the feeders built of wooden materials and the fact that washing and disinfection of feeders and water troughs weren't conducted on daily basis. During the control after the disinfection, there was still a significant presence of *Aspergillus* mold, while the

swabs taken after disinfection revealed the predominant presence of *Aspergillus flavus* which can be explained by greater resistance of *Aspergillus* spp. spores and by previously defined problems. With the introduction of daily washing and disinfection of feeders and water troughs, satisfactory results have

been achieved in the reduction of microorganisms. The problem with the presence of microorganisms on feeders after disinfection has to be solved by replacing wooden feeders with those made from materials that can be easily disinfected and washed.

CONCLUSION

By analyzing the microbiological status before and after disinfection, we can conclude that the use of peracetic acid based disinfectants shows satisfactory effects on surfaces that due to their characteristics could be adequately prepared for disinfection using mechanical cleaning and sanitary washing. On surfaces where it was not possible to carry out adequate cleaning and sanitary washing, such as wooden feeders, the results of the disinfection were not satisfactory. For this reason,

it is necessary to use feeders and water troughs made of materials that can be easily washed and disinfected, thus enabling continuous disinfection as a biosafety measure. The problem of the increased number of microorganisms on egg cartons can be solved by one-time use of egg cartons with their previous disinfection according to the previously defined procedure using formalin vapor, while implementing all measures for the protection of persons who conduct disinfection.

REFERENCES

1. Annon (2012): Biosecurity procedures in poultry production, OIE - Terrestrial Animal HealthCode, Appendix 6.4.1., http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/2010/en_chapitch_1.6.4.htm
2. Dorđević M. (2009): Biosafety measures in pheasant farms, Collection of papers XIX consultation on disinfection, disinsection and deratization in environmental protection
3. Ilić Z., Jakic Dimic D., Pavlovic I., Zugic G., Gavrilovic M. (2008): Efficacy of same antimicrobial substance at *Salmonella* microorganisms isolated in poultry breeding objects 1st Mediterranean Summit of WPSA, Thessaloniki, Greece, 07-10
4. Matković K., Matković S. (2006): The importance of cleaning and disinfection in poultry, Scientific Expertise, Vol. VII, 95-99. 2006
5. Pavlović I., Floristean I. (2004): Pheasants - education and health care (3), Biology and physiological characteristics (I). Poultry farming, XXXIX(11), 12-13, 2004.

Paper received: 18.06.2017.

Paper accepted: 15.04.2018.

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. Штампана се у 300 примјерака, а доступан је *онлајн* на интернет страници Института: www.virs-vb.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-популарних текстова и информативних чланака из области ветеринарске медицине у Републици Српској и региону.

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

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

Ваше рукописе можете слати путем *онлајн* поште на адресу главног и одговорног уредника: drago.nedic@virs-vb.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 Cyrillic, 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 јединице Међу-

народног 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 суперскрипту нагласити бројеве који означавају у фусноти институцију у којима су аутори запослени.
- име и презиме коресподентног ау-

тора – навести на дну странице са контактом (имејл и/или телефон) и институцијом гдје је аутор запослен;

Краatak 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 објасњењем 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 треба да се прикажу 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 eradication 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 њаса 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@virs-vb.com

Web: www.virs-vb.com

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The text of the manuscript should be prepared in MS Word Cyrillic or Latin (Serbian Cyrillic, Serbian Latin). Font should be Times New Roman, font size 12 pt with single line spacing. All margins should be set to 2.54 mm for the page size to A4 with aligning and each paragraph indented. Text of the manuscript should not be longer than 15 pages with attachments (tables, illustrations).

The text should avoid unnecessary abbreviations and symbols. Also, authors should avoid foreign words, and if necessary, they should be translated into the Serbian language. Latin names must be written in *Italic*, and the for names of the drugs must be used generic names. Appliances and devices are listed under the original trade name and the product name.

Numbers should be written with a comma and with a maximum of two decimal places. Use the measuring unit of the International System of Units – SI system. Photos, charts, and tables should be included in the text, but because of better quality authors can send them in a separate folder with paper. It is desirable to have the high quality of the illustrations. With the paper, it should be submitted declaration, which can be downloaded [HERE](#).

STRUCTURE OF THE PAPER

Veterinary Journal of Republic of Srpska publishes a scientific papers that meet technical criteria declared in

the “Rulebook of publishing scientific publications” of the Ministry of Science and Technology of the Republic of Srpska.

Original scientific paper should have the following sections: title page, abstract, introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion and list of references. If necessary, it can be written acknowledgments as last section of paper if the research funded by the project.

First page:

On the front page should be written:

- Title of the article – should be short and informative. It must be written exclusively in capital letters, size 12 (pt). In the title should not be included abbreviations;
- The author's names – should be written under the title. Full names of the authors should be written. In superscript emphasize a number that indicates in a footnote of institutions name in which are authors employed;
- Name and surname of the correspondent author should be listed on the bottom of the page with a contact (e – mail and / or phone) and the name of the institution where the author is employed;

Abstract

Abstract should be written on a separate page up to 250 words. In addition to the title and author's name, a abstract should have the most important

information from paper. It should be listed 3-6 keywords. Abstract is written in Serbian and English.

Introduction

In the introduction of the paper must be described the topic that is been devoted to investigation. Emphasize the latest facts and scientific problems with the explanation of aim and their own testing. Introduction may not be to extensive. It is recommended that in the introduction are highlighted latest literature data. Introduction must justify the research.

Materials and Methods

Materials and methods need to clearly and concisely describe the materials and animals on which experiments were performed, and the methods that were used in the experiment.

Results

The results should be presented in the form of text, tables, graphs and illustrations. Tables should be simple and clear, with a legend in which the explanation of abbreviations and symbols are noted. Each contribution should have a title (above the table, and below the chart and figure), which should be clearly stated what contribution shows.

Discussion

The discussion should be carried out comparing the results of their own research with results of foreign and local authors who have dealt with the problem on the same or similar topics.

Conclusion

In conclusion, the authors should make a final review on the topics that are covered in paper.

References

Authors must use the Harvard method of citation. References must be current and topical. Because reducing the possibility of mistakes, the names of foreign authors are written in Latin and Italic. In the text, refer to the author's name and year of publication (Nedić, 2012). If are ther two authors, it should be written the surnames of both authors and the year of publication (Spells and Morgan, 1998), and in the case of more then two authors, to the name of first author must added abbreviation "et al." (Nedić et al., 2011).

The list of references should be numbered in Arabic numerals and arranged alphabetically (Cyrillic and Latin).

Use the following system for arranging the references:

Journal article:

Nedic D., Tesic M., Baltic M., Plavsic B., Tajdić N., Mirilović M (2011): Management and control program for suppression and eradikation of classical swine fever in Serbia . Acta Vet 61: 295-307.

Book:

Tesic M., Nedic D. (2011): Menadžment veterinarske prakse, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

Chapter in the book:

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, pp. 18-29.

Monograph:

Aleksic – Kovacevic Sanja (2005): Limfomi pasa i mačaka, Mladost Biro, Beograd.

Abstracts and short summaries from the proceedings:

Ćupić V., Trailovic D., Dobrić S., Velev R (2005): The importance of rational use of drugs in veterinary medicine. Proceedings of Workshop Clinica Veterinaria Ohrid, Macedonia, 3-7. September, 207-9.

Thank you for your cooperation!

Editor- in-Chief: Prof.dr. Drago N. Nedic (E-mail: drago.nedic@virs-vb.com)

