

UDK 619 (05)

ISSN1840-2887Штампа-Print
ISSN 2303-4475 Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

Veterinary Journal of Republic of Srpska



Вол/Vol XVII, бр./No 1, стр./page1-142, Бања Лука/Vanja Luka, 2017



Романија, 10. септембар 2017.

UDK 619 (05)

ISSN1840-2887 – Штампа-Print

ISSN 2303-4475 - Online

ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ

VETERINARY JOURNAL OF REPUBLIC OF SRPSKA

Научно-стручни часопис – Scientific and professional journal

Ветеринарски журнал Републике Српске, Вол. 17, број 1, стр. 1-142, Бања Лука, 2017
Veterinary Journal of Republic of Srpska, Vol. XVII, No 1, page 1-142, Banja Luka, 2017

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 Иван Георгиев Бошков, Ivan Geoorgiev Bozhkov, PhD, (Бугарска-Bulgaria)
Др Бојан Голић, Bojan Golić, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Србољуб Голубовић, Srboљub Golubović, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Слободан Дојчиновић, Slobodan Dojčinovi, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Жељко Цветнић, Željko Cvetnić, PhD, (Хрватска-Croatia)
Др Нихад Фејзић, Nihad Fejzić, PhD, (БиХ, В&Н)
Др Весна Калаба, Vesna Kalaba, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Драган Касагић, Dragan Kasagić PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Миломир Ковач, Milomir Kovač, PhD, (Руска Федерација, Россијска Федерација)
Др Рајко Латиновић, Rajko Latinović, PhD, (БиХ-РС, В&Н-RS)
Др Казимиерас Лукаускас, Kazimieras Lukauskas, PhD, (Литванија-Lithuania)
Др Зора Мијачевић, Zora Mijačević, PhD, (Србија-Srbija)
Др Биљана Пећанац, Biljana Pećanas, 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 - ЛЕКТОР: Александра Савић, Aleksandra Savić

РЕЦЕНЗИЈА - REVIEW:

Часопис се упућује на двоструку рецензију еминентним стручњацима оvisно о тематици рада

ГОДИШЊЕ СЕ ОБЈАВЉУЈУ 2 БРОЈА ЧАСОПИСА

Часопис је бесплатан и штампа се у 300 примјерака.

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

ШТАМПА - PRINT: Comesgrafika, Бања Лука

Ветеринарски журнал Републике Српске, 78000 Бања Лука, Бранка Радичевића 18,
Тел/факс: 051/229-210, Е-mail: drago.nedic@virsvb.com, Web Page: <http://www.virsvb.com>

Предговор овом броју



Поштовани читаоци,

Пред Вама је први број XVII волумена вашеј и нашеј часописа Ветеринарски журнал Републике Српске. У овом, броју објављујемо десет радова који су прошли двоструку стручну рецензију. Поново подсећамо да су све рецензије анонимне што значи да аутори и рецензенти не знају једни за друге. И даље имамо одређени број радова који не добију позитивну оцјену рецензента па молимо ауторе радова за разумијевање и да на приједлог рецензента изврше мање или веће корекције (осим уколико рад није оцијењен као неприхватљив за штампу). Неминовно је да се и квалитет часописа поправља сваким новим бројем. То свједочи и оцјена Index Copernicus-a по броју поена и ICV вриједности. Обзиром да се и у региону овај часопис вреднује као водећи национални или национални часопис можемо очекивати да се у наредном периоду повећа интересовање за објављивање радова у овом часопису, а што се види и по томе да је тренутно преко 30 радова у разним фазама рецензије и корекције. У ситуацијама кад један рецензент касни или када имамо значајна одступања код двије рецензије онда тражимо и трећу рецензију.

Позивамо колеге са терена да сами или у сарадњи са колегама са институција или факултета пишу радове који се могу објављивати као приказ случајева из праксе који ће бити вриједан допринос за унапређење рада ветеринарске праксе.

У контакту са колегама са терена сазнајемо да постоји потреба да се што више проверених стручњака са одређених институција појављује на терену и да кроз едукације на већим или мањим скуповима помоћу колега на терену и унапријед ефикасност рада.

Да подсетимо, нодуларни дерматитис није потврђен у БиХ, али имајући у виду начин ширења надлежни органи у БиХ су процijenили да није претјала опасност од појаве ове болести па је донешена одлука да се изврши превентивна вакцинација говеда. Обзиром да је вакцина стигла и достављена на терен у периоду када су биле огромно високе температуре, број вакцинисаних љубимаца је доста мали. За очекивати је да се током јесени ова мјера проведе у цијелости. Међутим, болест плавог језика је добила грутацију статус односно, одобрена је вакцинација али на широк власника животиња. Немамо података колико је животиња вакцинисано.

У јуну 2017. године одржано је 22. Савјештовање доктора ветеринарске медицине Републике Српске на којем је учествовао рекордан број учесника што обавезује организаторе да следеће савјештовање буде још боље јер је евидентан интерес за учешће на овом скупу.

Сви радови у овом броју Ветеринарског журнала Републике Српске су лекторисани, индексирани и прошли процедуру рецензије.

Захваљујемо се свима који су допринијели квалитету овог броја нашеј и вашеј Ветеринарској журнала Републике Српске.

С поштовањем,

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК
Проф.др Драго Н. Негић

САДРЖАЈ / CONTENTS

1. Мирослав Валчић, Соња Радојичић, Наташа Стевић, Милован Миловановић
**ЕПИЗООТИОЛОШКА СЛУЖБА ЈЕДАН ОД ОСНОВНИХ СТУБОВА
ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ**
Miroslav Valčić, Sonja Radojičić, Nataša Stević, Milovan Milovanović
**EPIZOOTIOLOGICAL SERVICE- ONE OF THE CORNERSTONES
OF VETERINARY MEDICINE 4**
2. Miodrag Lazarević, Aleksandar Milovanović
PRIMENA POJEDINIХ IMUNOSTIMULATORA U VETERINARSKOJ MEDICINI
Miodrag Lazarevic, Aleksandar Milovanovic
**APPLICATION OF SOME IMMUNOSTIMULATORS
IN VETERINARY MEDICINE 16**
3. Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil, Vlado Teodorović,
Dragan Vasilev, Snežana Vučinić, Dejan Lausević
VIRUSI - AKTUELNI ALIMENTARNI PATOGENI
Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil,
Vlado Teodorović, Dragan Vasilev, Snežana Vučinić, Dejan Lausević
VIRUSES- CURRENT FOODBORNE PATHOGENS 37
4. Ivana Nešić, Zdenka Blagojević, Ivana Božičković, Drago Nedić,
Spomenka Đurić, Milena Đorđević, Aleksandra Nikolić
**UPOREDNE KARAKTERISTIKE POTKOЛENIH KOSTIJU
(OSSA CRURIS) SRNE (CAPREOLUS CAPREOLUS) I OVCE
(OVIS ARIES) U CILJU UTVRĐIVANJA PRIPADNOSTI ŽIVOTINJSKOJ VRSTI**
Ivana Nešić, Zdenka Blagojević, Ivana Božičković, Drago Nedić,
Spomenka Đurić, Milena Đorđević, Aleksandra Nikolić
**COMPARISON OF ROE DEER (CAPREOLUS CAPREOLUS) AND SHEEP
(OVIS ARIES) TIBIA (TIBIA) CHARACTERISTICS AS A METHOD OF
DETERMINATION ANIMAL SPECIES..... 56**
5. Jasmin Ferizbegović, Elvira Hadžiahmetović Jurida, Mersad Purdić,
Sandra Đapo, Sanin Tanković
UPRAVLJANJE RIZICIMA OD POPLAVA I KLIZIŠTA
Jasmin Ferizbegović, Elvira Hadžiahmetović Jurida, Mersad Purdić,
Sandra Djapo, Sanin Tanković
FLOODS AND LANDSLIDES RISK MANAGEMENT 67

6. Biljana Pećanac, Radan Tomić, Jelena Janjić, Jelena Ćirić,
Branislav Baltić, Slaven Grbić, Milan Ž. Baltić
ČAJNA KOBASICA–BEZBEDNOST I KVALITET
Biljana Pećanac, Radan Tomić, Jelena Janjić, Jelena Ćirić,
Branislav Baltić, Slaven Grbić, Milan Ž. Baltić
TEA SAUSAGE–SAFETY AND QUALITY 81

7. Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić
MOGUĆNOST DIJAGNOSTIKE BRUCELOZE DOMAĆIH ŽIVOTINJA
Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić
THE POSSIBILITY OF DIAGNOSIS OF DOMESTIC ANIMAL BRUCELLOSIS 93

8. Danica Savanović, Radoslav Grujić
PROMJENE PROTEINA U TOKU SMRZAVANJA
I SKLADIŠTENJA MESA I PROIZVODA OD MESA
Danica Savanovic, Radoslav Grujic
PROTEIN CHANGES DURING THE FREEZING
AND STORAGE OF MEAT AND MEAT PRODUCTS 105

9. Vitomir Ćupić, Saša Ivanović, Gordana Žugić, Dejana Ćupić Miladinović,
Miloš Blagojević
NOVI LEK U VETERINARSKOJ KLINIČKOJ PRAKSI
– OKLACITINIB MALEAT
Vitomir Ćupić, Saša Ivanović, Gordana Žugić, Dejana Ćupić Miladinović,
Miloš Blagojević
NEW DRUG IN VETERINARY CLINICAL PRACTICE
– OCLACITINIB MALEATE 119

10. Оливер Стевановић, Соња Николић, Владислав Мандић,
Драго Н. Недић, Жељко Секулић, Иван Павловић
ТОКСОКАРОЗА И АНКИЛОСТОМАТИДОЗА ЛИЦИЦА (VULPES VULPES)
У РЕПУБЛИЦИ СРПСКОЈ
Oliver Stevanović, Sonja Nikolić, Vladislav Mandić,
Drago N. Nedić, Željko Sekulić, Ivan Pavlović
TOXOCAROSIS AND ANCYLOSTOMATIDOSIS IN RED FOXES
(VULPES VULPES) IN REPUBLIC OF SRPSKA 129

DOI: 10.7251/VETJ1701004V

UDK: 636.09:614.2(497.6РС)

Мирослав Валчић¹, Соња Радојичић¹, Наташа Стевић¹, Милован Миловановић¹*Прејледни рад*

ЕПИЗООТИОЛОШКА СЛУЖБА – ЈЕДАН ОД ОСНОВНИХ СТУБОВА ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ

Кратак садржај

Факултет ветеринарске медицине представља један од факултета који пружају практична знања и вештине, а планови и програми појединих предмета дају солидну основу да по дипломирању лекар ветеринарске медицине зна да постави сумњу на неку заразну и паразитску болест, обави хируршку операцију, анализира резултате дијагностичких испитивања телесних флуида, уведе животињу у анестезију, обави телење, анализира резултате испитивања квалитета сточарских производа, апликује терапију у зависности од дијагнозе и потреба животиња, саветује сточара у вези технологије узгоја и биосиурносних мера итд. Кроз сваки од наведених (и ненаведених) послова, провлачи се један заједнички именитељ. Наиме, појединачни случајеви тј. пацијенти и најчешће позитиван исход третмана, не би значили пуно ако се не би анализовали са становишта правилности и учесталости појављивања болести и успеха спроведених мера. Као лекари ветеринарске медицине, често у помоћ позивамо статистичаре који нам са мање или више успеха, користећи статистичке методе, објасне како се појединачни случајеви болести уклапају у целу слику односа епизоотиолошких детерминанти: узрока (микроорганизма), пријемчиве врсте животиња (макроорганизма) и спољашњег фактора. Међутим, биолошки закони који представљају основу ветеринарске медицине често или нису до краја познати или по природи ствари нису елементи које статистичари уче. Отуда је од великог значаја да сваки лекар ветеринарске медицине буде и епизоотиолог и да на основу својих искустава (рада), покуша да пронађе закономерности поремећаја здравља, производних карактеристика и добробити у популацијама животињских врста као и да установи који су то фактори који утичу на појаву ових поремећаја, а са циљем изналажења мера за њихово уклањање и/или смањење штета.

Имајући у виду професионални профил епизоотиолога, може да се каже да епизоотиолошка служба обједињује податке о поремећајима здравља, произ-

1 Др Мирослав Валчић, Др Соња Радојичић, редовни професори Универзитета у Београду, дипл. ветеринар Наташа Стевић, асистент дипл. ветеринар Милован Миловановић, постдипломски студент, Катедра за заразне болести животиња и болести пчела, Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Е-адреса: miroslaval@mail.com

водних карактеристика и добробити животиња и има задатак да анализује добијене информације, предлаже и спроводи мере за контролу, сузбијање и искорењивање пре свега заразних болести. Епизоотиолошка служба је у највећем броју случајева (земаља) организована и повезана како по вертикали тако и хоризонтално. Свакако, основа су ветеринари на терену који, поред власника и држаоца животиња, први постављају сумњу на присуство неког поремећаја здравља. Следећи ниво су ветеринарски инспектори и епизоотиолози који се налазе у оквиру специјализованих дијагностичких ветеринарских института. На врху епизоотиолошке пирамиде налази се одељење у оквиру Управе за ветерину које обједињује податке са терена али и тесно сарађује са осталим одељењима Управе. На тај начин, омогућава се да се епизоотиолошка служба прикупља податке не само о заразним и паразитским болестима које често имају зоонотски потенцијал, већ и информације о поремећајима у продуктивности, подизању квалитативног и квантитативног стандарда производа животињског порекла и ризика по добробит животиња. Исто тако, епизоотиолошка служба у оквиру Управе за ветерину сарађује са Међународним Уредом за епизоотије (ОИЕ), поштујући принципе и критеријуме за размену података и међусобно извештавање Уреда и земаља чланица ОИЕ-а. Епизоотиолошка служба сарађује и са епидемиолошком службом у циљу контроле и сузбијања зооноза.

Кључне речи: епизоотиологија, ветеринарска епидемиологија, ветеринарска медицина.

DOI: 10.7251/VETJ1701004V

UDK: 636.09:614.2(497.6PC)

Miroslav Valčić¹, Sonja Radojičić¹, Nataša Stević¹, Milovan Milovanović¹

Review paper

EPIZOOTIOLOGICAL SERVICE- ONE OF THE CORNERSTONES OF VETERINARY MEDICINE

Summary

The Faculty of Veterinary Medicine is one of the „hands on“ faculties whose curriculum offers a sound base for a graduate to diagnose an infective or parasitic disease, perform a surgical intervention, analyze results of body fluids tests, assist delivery, assess the quality of livestock products, apply treatment according to the diagnosis and need of the animal, offer council to the farmers, etc. In all the listed (and

¹ Prof.dr Miroslav Valčić, Prof.dr Sonja Radojičić, assistant Nataša Stević DVM, Milovan Milovanović scientific assistant, Faculty of veterinary medicine, Belgrade University

not listed) duties there is a common denominator, as individual cases would not be of relevance if not observed within the framework of disease regularity and incidence, as well as success of the performed measures. Doctors of veterinary medicine very often appeal to the help of statisticians which to a higher or lesser extent, with the aid of statistical methods, explain how individual cases fit within the whole picture of epizootiological factors: cause (microorganisms), susceptible animal (macro organism), and environmental factors. However, biological rules which represent the core of veterinary medicine very often are not elucidated, or are not taken into account by the statisticians. Thus, the importance for every veterinarian to find the epizootiologist within, and according to his/her knowledge and experience try to define the rules according to which a disease develops or production and welfare are affected. At the same time the veterinarian should be able to define which factors affect the presence of these disorders, all with the aim of prevention and/or damage mitigation.

Bearing in mind the professional profile of an epizootiologist, it can be said that the epizootiological service encompasses data on health disorders, productive characteristics and animal welfare and within the Ministry of Agriculture has a role to analyze the obtained data, suggest and carry out control measures, combat and eradicate above all infectious diseases. Also, the Directorate for Veterinary Affairs forwards data to the International Office thus collaborating with the epidemiological service with the aim of zoonoses control and eradication.

Key words: epizootiology, veterinary epidemiology, veterinary medicine.

УВОД/ INTRODUCTION

Током развоја ветеринарске гране медицине уопште, однос према епизоотиологији се мењао. У време када су харале тешке заразне болести животиња са честим фаталним исходом, епизоотиологија се бавила изналажењем узрока и спречавањем или смањивањем негативних последица по појединачну животињу или групу јединки под ризиком. Постепено, разјашњавањем узрочно последичне

везе између, на пример вируса изазивача класичне куге свиња и оболења као и са проналаском мера за контролу (имунопрофилактику, на пример), сузбијање и искорењивање, велики број фаталних оболења животиња као и зооноза, сврстан је у групу оних поремећаја здравља који могу да се сузбију, регионално искорене или барем контролишу. Отуда је данас све више епизоотиолога чије поље рада више није сузбијање епизоотија у региону у коме се налазе већ дефинисање и спрово-

вођење мера за сузбијање узгојних болести и поремећаја здравља које ометају оптималне производне резултате. У новије време, епизоотиологи се баве и мерама којима се утиче на подизање нивоа добробити животиња.

Аутори настављају традицију која подразумева да се терминолошки прави разлика између епизоотиологије и епидемиологије. Наиме, корен речи епизоотиологија потиче из грчког језика: *еπι* (*επι*) што значи *о, под* (у описном смислу), *зоо* (*ζωο*) значи *животиња*, а *лого* (*λογο*) значи *разјашњење*. Отуда кованица ове три речи има смисао који би могао да се изрази као студија у популацији животиња. У значајном броју литературних извора, практично се изједначава појам епизоотиологије са ветеринарском епидемиологијом. Међутим, термин „епидемиологија“ је у суштини ужи појам и односи се искључиво на испитивања поремећаја здравља код људи (*демо*, *δημο*). Тако на пример, када се говори о епидемиологији Q грознице у једном региону, мисли се на случајеве оболевања људи, упркос чињеници да се ради о значајној зоонози. Са друге стране, повећана инциденција побачаја код говеда или оваца, узрокована са *Coxiella burnetii*, представља епизоотију Q грознице. Слично може да се наведе и за неке друге заразне болести (лептоспироза и бруцелоза, на пример).

I. Поље рада епизоотиолошке службе

У следећих неколико примера, биће приказане методе и само мали сегмент основних вештина које епизоотиолог треба да поседује. Наиме, у неким околностима биће потребно да се процени утицај тренинга на резултате, а некада ће епизоотиолог морати да процени колики број узорака треба да се узме из целокупне популације да би се са задатим нивоом сигурности пронашла барем једна животиња која је клицоноша.

Пример 1 (подаци су виртуелни). Просечна висина препреке коју је група од 64 (*N*) паса на почетку испитивања могла да прескочи, била је $\bar{X}_1 = 45.0$ цм, уз стандардну грешку $s_1 = 6.0$ цм. После вежбања, пси су просечно могли да прескоче $\bar{X}_2 = 46.5$ цм ($s_2 = 5.0$ цм). Поставља се питање да ли вежба значајно утиче на способност паса да прескоче већу висину? Једноставним израчунавањем стандардне грешке средњих вредности ($s_x = 0.63$) и разлике средњих вредности (1.5), долази се до односа разлике и грешке разлике ($1.5/0.63$) што даје вредност од 2.38. На основу „*t*“ таблице, ова вредност указује да тренинг значајно (на нивоу вероватноће $P < 0.05$) утиче на способност прескакања већих висина код паса.

Пример 2 (Martin SW, 1987). Испитиван је утицај врсте једног типа вентилације (вентилатора) на интензитет промена на кланичном прегледу, а

као последица пнеумоније, на фармама свиња. Јединица узорка је била фарма. Табеларно, приказани су резултати:

Вентилациони канали	Преваленција пнеумоније фарме		Укупно
	Висока (D^+)	Ниска (D^-)	
ДА (F^+)	91 (a)	73 (b)	164
НЕ (F^-)	25 (c)	60 (d)	85
Укупно	116	133	249

Табела 1. Резултати испитивања утицаја типа вентилације на преваленцију оштећења плућа, као последице пнеумоније код свиња.

Поље a	$164 \times 116 / 249 = 76.40$	Поље b	$164 \times 133 / 249 = 87.60$
Поље c	$85 \times 116 / 249 = 39.60$	Поље d	$85 \times 133 / 249 = 45.40$

Прво се израчуна очекивани број фарми за сваки тип вентилације. Очекивана преваленција оболевања се израчуна множењем одговарајућег броја у реду са бројем у колони и делењем са укупним бројем јединица узорка:

Применом χ^2 (хи квадрат) теста којим се анализују две пропорције, добија се вредност 14.3. Критичне вредности које се налазе у табели за овај тип теста, а за 5% или 1% вероватноће су 3.84 односно 6.64. Пошто је добијена вредност (14.3) већа од обе величине из табеле, може да се закључи да су тип вентилације и преваленција пнеумоније значајно повезани фактор

и последица. Другим речима, значајно већи број фарми код којих постоји дати тип вентилатора, има већу преваленцију пнеумонија у поређењу са фармама без вентилатора.

Пример 3 (подаци су виртуелни). Потребно је да се обави процена броја узорака који треба да се узму из популације, а да би се пронашао барем један случај оболеле животиње. Користи се релативно једноставна једначина („ a “: вероватноћа да ће да се установи барем једна позитивна животиња, „ D “: број оболелих животиња за процењену преваленцију, „ N “: укупан број јединки у популацији):

$$n = \left[1 - (1 - a)^{\frac{1}{D}} \right] \left[N - \frac{D - 1}{2} \right] = \left[1 - (1 - 0.95)^{\frac{1}{263}} \right] \left[8754 - \frac{263 - 1}{2} \right] = \\ = \left[1 - (0.05)^{0.004} \right] [8754 - 131] = [1 - 0.988] [8623] = 103.5$$

$$n = \left[1 - (1 - a)^{\frac{1}{D}} \right] \left[N - \frac{D-1}{2} \right]$$

Ако на пример, има укупно 8754 животиња у региону под ризиком и ако се предпоставља да је преваленција 3% ($D=263$) онда:

Што значи да са 95% сигурношћу да ће да се нађе барем једна позитив-

на животиња у популацији од 8754 животиња, треба да се узоркује 104 животиња, у случају да је процењена преваленција 3%.

Пример 4 (Davidson JN, 1981). У табели 2, су дате вредности резултата примене различитих мера контроле тромбоемболичног менингоенцефалитиса говеда.

Табела 2. Ефекти различитих стратегија у контроли менингоенцефалитиса говеда.

Могући статус	Вероватноћа појављивања	Економски резултати различитих стратегија		
		Стратегија 1*	Стратегија 2	Стратегија 3
Нема оболења	0.85	9 286 286	9 239 300	9 286 200
Присутно оболење	0.15	9 007 614	9 239 300	9 185 700
Очекивана вредност у новцу	Стратегија 1	$(0.85 \times 9\,286\,200) + (0.15 \times 9\,007\,614) = 9\,244\,412.10$		
	Стратегија 2	$(0.85 \times 9\,239\,300) + (0.15 \times 9\,239\,300) = 9\,239\,300.10$		
	Стратегија 3	$(0.85 \times 9\,286\,200) + (0.15 \times 9\,185\,700) = 9\,271\,125.00$		

(*) Стратегија 1: нема примене било које мере; Стратегија 2: вакцинација свих животиња; Стратегија 3: третман после појаве првог случаја.

Вредности су дате у доларима (жива мера 1.32\$), просечна тежина 300 кг, број говеда по фарми 350, број фарми 67 (годишње), вероватноћа заражености 15%. Стратегије су: 1. Изостанак мера заштите; 2. Вакцинација (2\$/вакцина); 3. Масовни третман (лечење 114\$/фарма). Претпоставка морталитета је 1%. Очигледно је да је очекивана вредност у новцу највећа за трећу стратегију која подразумева третман свих животиња после појаве првог случаја на фарми.

Пример 5 (Macdonald DW and Bacon PJ, 1980). У табели 3 приказан је међусобни однос и утицај социјалног статуса лисица на понашање и одржавање беснила у популацији. Број знакова означава степен неповољних (-) односно повољних (+) услова за одржавање беснила у популацији лисица, а у зависности од социјалног статуса животиња. Појединачно, животиње могу да буду „самци“,

у пару или део породице. Типови симптома: тихо (осамљивање оболеле животиње), фуриозно (улазак у групе других животиња) и мешовито.

Табела 3. Међусобни однос и утицај социјалног статуса и понашања на одржавање беснила у популацији лисица.

		Груписање лисица				
		Самци	Пар	Породица	Социјалне групе	Мешане групе
Понашање бесних лисица	Тихо	- - - -	+	++	+++	++
	Фуриозно	+	++	+++	++++	+++
	Мешано	+	++	+++++	+++++++	+++++

Наведени примери само су мали сегмент материје која је поље рада епизоотиолога. Отуда може да се закључи да је у оквиру епизоотиолошке службе Управе за ветерину, неопходно да се налазе специјалисти који добро познају ветеринарску медицину али који имају способност латералног мишљења и повезивања различитих, често веома удаљених материја.

II. Спремност епизоотиолошке службе за сузбијање заразних болести и реаговање у кризним ситуацијама

Сведоци смо поновних епизоотија оних заразних и паразитских болести које смо као ветеринарска служба, безмало заборавили. Епизоотије слинавке и шапа као и случај сакагије на територији Европе, појава дурине на југу Европе, само су неки од примера који указују да је борба против зараза далеко од завршене, а још мање добијене. Са друге стране, егзотичне заразне болести као на пример нодуларни

(Lumpy) дерматитис, мање – више из сезоне у сезону, повећавају списак зараза са којима се сусреће ветеринарска служба државе и региона. Познато је да се неке заразне болести ензоотски појављују, а као последица сложених интеракција микроорганизама (лептоспира, на пример), макроорганизама (пријемчивих врста) и спољашњег фактора (нерегулисане отпадне воде). Све док су ове епизоотиолошке детерминанте у међусобном балансу, оболење се појављује ензоотски. Међутим, поремећај у некој од ових детерминанти, може да услови епизоотију па је тако на пример, повећање инциденције лептоспирозе уочено приликом поплава или повећаног броја глодара.

Када се говори о спремности ветеринарске службе у односу на реаговање приликом појаве неке епизоотије егзотичне заразних болести, потребно је да се укаже на три категорије зараза: епизоотија егзотичних болести које се никада нису појављивале

у региону, епизоотија егзотичних болести које су искорењене и епизоотија болести које се налазе као ензоотије у региону (држави). Посебно место заузимају заразе са зоонотским потренцијалом, а које се налазе у све три наведене категорије.

Једна од обавеза епизоотиолошке службе јесте праћење заразних болести у региону тј. у суседним државама. Свака појава на пример богиња оваца на истоку, пут кретања нодуларног дерматитиса са Афричког континента, преко Турске и Грчке ка нашем региону, промет контаминисане робе или чак и живих животиња из региона где се појављује афричка куга свиња представља сигнал за повећану пажњу и надзор над прометом. Међутим, у неким случајевима, практично је немогуће да се продор на пример, вектора (куликоидеса), спречи и онемогући епизоотија болести плавог језика. Међутим, чак и у таквим случајевима, епизоотиолошка служба мора да поседује план и ресурсе чијом употребом треба да што је могуће више смањи негативне ефекте епизоотије.

У делимично сличну категорију спадају и заразне болести које су већ искорењене, али које стално представљају претњу сточном фонду у земљи. Спорадично појављивање епизоотија слинавке и шапа, дурине или богиња оваца указују да се не може искључити могућност да се сваки лекар ветеринарске медицине, барем једном у животу не сусретне са овим болестима које су пре мање или више вре-

мена, искорењене. Међутим, снажне економске (трговинске) и сваке друге везе са регионима света у којима је на пример слинавка и шап ензоотско оболење, условљавају стално постојање опреза приликом анализе ризика од уноса таквих оболења. Отуда је обавеза епизоотиолошке службе да процени ризик од уноса ових оболења и пре свега саветује Управу за ветерину да се дијагностичке лабораторије држе спремне за брзу дијагнозу као и да се припреми подзаконска регулатива за случај избијања ових зараза. Када се говори о епизоотиолошкој служби једне државе, потребно је да се нагласи да је сузбијање заразних болести, а нарочито оних са зоонотским и потенцијалом да значајно угрозе економију земље, приоритет ветеринарске службе у целини, при чему се треба подсетити на чињеницу да су и први факултети ветеринарске медицине основани баш ради сузбијања сточних зараза (Лион, 1764). Већ је било говора о вертикалној организацији и повезивању епизоотиолошке службе у целину. Међутим, треба да се нагласи да су сви нивои епизоотиолошког рада подређени и у функцији су Министарства пољопривреде (Управе за ветерину) које се бави пословима ветеринарства.

У том смислу од нарочитог је значаја припрема кризних (ванредних) националних планова за појаву неког специфичног оболења. Док је епизоотиолошка ситуација у односу на ова оболења стабилна, разрађују се могућности и сценарија појаве епизоотија и истовремено обавља обука људи

на свим нивоима; од локалних центара па све до националног центра и дијагностичке лабораторије. Истовремено, увежбава се систем повезивања различитих државних институција као што је то на пример Министарство унутрашњих послова, Министарство војске, метеоролошка служба итд.

На први поглед, ове две описане категорије заразних болести представљају јасну и велику опасност по сточни фонд државе. Међутим, постоје болести које се мање-више ензоотски појављују и чија контрола и сузбијање представља сталан задатак епизоотиолошке службе. У овакве болести спадају бруцелоза, лептоспироза, Q грозница, Морбус Аујески, парвовирусне инфекције свиња, ПРРС и тд. Често се ради о тзв. „узгојним“ оболењима која се контролишу вакцинацијом или неком од других ветеринарских и зоо-профилактичких мера. Истовремено, епизоотиолошка служба је свесна да се на пример, бруцелоза или класична куга свиња не могу да сузбију у кратком временском периоду. У таквим случајевима серолошка присмотра, испитивање присуства тетрациклина у зубима лисица или мониторинг вируса у дивљим свињама, представљају кључне мере које се спроводе за контролу бруцелозе, беснила или класичне куге свиња.

Заједнички је задатак епизоотиолога и епидемиолога сузбијање зооноза као што су то на пример, грозница западног Нила, туларемија, бруцелоза или Q грозница. Истовремено, у про-

теклих неколико година, у рад Симпозијума „Епизоотиолошки дани“ све се активније укључују епидемиолози. Штавише, један од радова на овомодишњем симпозијуму, указао је да се преваленција и инциденција салмонелозе код људи, значајно смањују, а као последица рада ветеринарске службе на контроли ове заразне болести пре свега птица и производа живинарске индустрије. Искуство говори да се нека оболења дијагностикују тек када се почну да појављују први случајеви код људи. Пример за то је свакако бруцелоза или лептоспироза. У новије време, у региону је појава Q грознице код људи била индикатор присуства резервоара у околини. У таквим ситуацијама, епизоотиолошка служба има задатак да објасни природну историју болести у региону и да епидемиолошкој служби помогне у разумевању комплексних односа вектора, резервоара и домаћина *Coxiella burnetti*.

III. Епизоотиолошка служба и остале научне дисциплине ветеринарске медицине

Значајан сегмент рада епизоотиолога је како да основне статистичке законитости и методе примени у биолошким тј. ветеринарским системима. Кључни корак ка дефинисању неке студије јесте одабир узорка. Примењујући већ напоменуто једначину на конкретне услове терена, епизоотиолог одређује стратуме и кластере као и број животиња које треба да се узор-

кују. На тај начин, значајно се смањује цена коштања студије уз истовремено обезбеђивање квалитетних података за каснију анализу. Примењујући анализе дистрибуције (Нормалне, Студентове, дистрибуције фреквенције тј. Хи квадрат тест или Поасонове дистрибуције), епизоотиолог изналази законитости у виду значајности неког представљеног узрочног фактора на настанак поремећаја здравља и производних особина.

До пре неколико деценија узрочно последична повезаност фактора и ефекта у случају инфективних болести, заснивала се на способности и могућности истраживача да задовољи тзв. Кохове постулате за дато оболење. Ови су постулати налагали да се: 1. Микроорганизам у чистој култури изолује из типичних случајева (и промена) болести, 2. Микроорганизам умножи *in vitro* и инокулише у пријемчиву животињу и 3. Код такве животиње, уоче типични симптоми за дато оболење. Са потпуним разјашњењима природних историја већине (ако не и свих) заразних болести као и са повећаним значајем глобализације, данас се сусрећемо са чињеницом да се узрочно последична веза доказује статистичким методама којима се изналази значајност неког узрока на настаanak ефекта.

Сведоци смо да је профит на пример, свињарске фарме на нивоу од пар процената у односу на улагања. Отвореност тржишта нас приморава да са ценама конкуришемо не произвођачима на државном нивоу тржишта већ

произвођачима који често имају далеко повољније услове производње. У таквим околностима, задатак епизоотиолога је да анализује компаративне предности појединих региона и да укаже у ком правцу треба да се усмере фондови за подстицај у сточарству и у пољопривреди уопште.

Серолошке дијагностичке методе се заснивају на способности антитета да реагују са истим или сличним антигеном који је изазвао његову синтезу. На основу ове реакције, процењује се здравствени статус животиње. Међутим, формирање имунског комплекса и постављање дијагнозе, за епизоотиолога је само почетак. Бројни резултати који се добијају, на пример приликом серолошке прегледне на бруцелозу, сливају се у епизоотиолошку службу која се налази у Управи за ветерину. Ту се обавља анализа и процењује које мере треба да се предузму како на фарми са које потиче узорак тако и на нивоу државе, а за случај датог процента серопреваленције у целој популацији.

IV. Епизоотиолошка служба – веза са другим гранама медицине и системима

Један од основних циљева епизоотиологије јесте истраживање болести чија природна историја није позната. У том случају, повезују се подаци који се односе на ентомолошка знања о вектору, климатске (макро и микро) прилике и дистрибуција пријемчиве популације. На пример, случајеви Лајм-борелиозе, нису проблем само за

људе већ се оболење региструје и код других сисара, а од кључног значаја су и вектори, крпељи. Резултати истраживања заражености крпеља у неком региону, значајно доприносе контроли овог оболења код људи.

Постоји већи број грана науке ветеринарске медицине које тесно сарађују са коресподентним сегментима медицине која се бави здрављем људи. Хирурзи вежбају трансплантацију бубрега на псима, а безброј је примера употребе различитих врста животиња као модела за испитивање оболења људи. Међутим, значај који има сарадња епизоотиолошке службе са епидемиолошком службом, превазилази све друге нивое сарадње. На првом месту, ради се о контроли и сузбијању зооноза. Већ је било речи о значајном смањењу инфекција људи са салмонелама из хране, што је последица мониторинга ових инфекција код животиња и њихових производа. Инфлуенца (грип), антракс, беснило, трихинелоза, ехинококоза, већ споменуте туларемија и Q грозница, а у другим регионима света, на пример грозница Рифт долине... све су то оболења која немају само значај у микробиологији и паразитологији медицинских наука већ представљају суштинско поље рада епизоотиолога.

Имајући партикуларно знање из великог броја наука које чине ветеринарску медицину, епизоотиолог је најпозванији да обави анализу ризика која представља ослонац савремене унутрашње и међународне тргови-

не животињама и производима животињског порекла. Упркос чињеницама да се током анализе ризика често поставља више питања од могућих одговора као и доношења закључака на погрешним премисама ипак анализа ризика идентификује факторе ризика и сам ризик уопште уз пружање знања о могућим начинима управљања ризиком.

ЗАКЉУЧАК/ CONCLUSION

Епизоотиолошка служба је у сваком случају инкорпорисана у ветеринарску службу дате државе која у складу са својим могућностима, мање или више спроводи мере надзора и присмотре свих поремећаја здравља и продуктивности код животиња те на основу резултата и њихове анализе предлаже мере за контролу, сузбијање и искорењивање пре свега заразних и болести паразитске етиологије. У новије време, све се већа пажња посвећује и мерама за подизање продуктивности у сточарству као и афирмацији извоза производа сточарске индустрије.

Када се говори о будућности, треба да се укаже на чињеницу да је данашње схватање епизоотиологије настало као последица свести да нису само различне болести онај поремећај здравља који је поље рада епизоотиолога. Отуда може да се очекује да се у будућности епизоотиологија и епизоотиолози активно укључују у све оне поремећаје у популацијама животињских врста који могу да угрозе здравље, продуктивност и добробит животиња. Са успехом контроле и у неким случаје-

вима и ерадикацијом бројних заразних болести завршавају се поједина поглавља али се истовремено отварају нова. Ово је свакако последица измена у епизоотиолошким детерминантама (макроорганизам, микроорганизам и спољашњи фактор) при чему ће се у неким случајевима радити о продору нових вектора у до тада незаражене регионе, а у некада ће генетска измена у факторима вируленције представљати изазов за епизоотиолошку службу (инфлуенца вируси).

Може да се закључи да епизоотиолози који чине епизоотиолошку службу једне државе повезују наизглед потпуно удаљене гране медицинских наука. Не постављајући се ни у ком случају изнад, епизоотиолози представљају кључни фактор генерализације резултата испитивања и студија у ветеринарској медицини. У оквиру система здравствене заштите животиња, епизоотиолози координишу све активности на спровођењу мера контроле, сузбијања и искорењивања болести које су значајне за државу уз стално ангажовање на пољу оптимизације продуктивности (материјалне и финансијске) у сточарској производњи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dahoo Ian, Wayne Martin, Henrik Stryhn (2003): Veterinary epidemiologic research. AVC Inc Publ.
2. Davidson J.N, Carpenter T.E, Hjerpe C.A. (1981): An example of an economic decision analysis approach to the problem of thromboembolic meningoencephalitis (TEME) in feedlot cattle. Cornell Vet. 71:383-90.
3. Gordis Leon (2014): Epidemiology 5th edition. Elsevier, Saunders publ.
4. Jewell Nicholas (2004): Statistics for epidemiology. Chapman & Hall /CRC press.
5. Macdonald D.W. and Bacon P.J. (1980): To control rabies: vaccinate foxes. New Scientist, 87, 640–645.
6. Martin S.W. et al. (1987): Veterinary Epidemiology – principles and methods, ed. Iowa State University Press, Ames, pp. 126.
7. Salman Mowafak Dauod (2003): Animal disease surveillance and survey systems – methods and applications. Iowa State Press, Blackwell Publ.
8. Smith Ronald (1995): Veterinary clinical epidemiology: A problem oriented approach. CRV Press, 2nd ed.
9. Stevenson Mark (2008): An introduction to veterinary epidemiology. EpiCentre, IVABS, Massey University, Parlmerson North, New Zealand.
10. Thrusfield Michael (2007): Veterinary epidemiology. Blackwell science Publ.

Рад примљен: 13.5.2017.

Рад одобрен: 28.8.2017.

DOI: 10.7251/VETJ1701016L

UDK: 615.33.015.8:[619:616.993

Miodrag Lazarević, Aleksandar Milovanović¹*Pregledni rad*

PRIMENA POJEDINIH IMUNOSTIMULATORA U VETERINARSKOJ MEDICINI

Kratak sadržaj

U ovom revijalnom radu su izneta savremena shvatanja mehanizama delovanja, uloga i mogućnosti primene imunostimulatornih supstanci u veterinarskoj medicini. Imunofarmakologija je ne tako nova grana farmakologije, nastala iz sve očiglednije potrebe da se lekovima i drugim prepratima utiče na funkcije imunskog sistema, kako ljudi tako i životinja. U veterinarskoj medicini imunostimulatori imaju poseban značaj zbog toga što postoji stalna potreba za zaštitom zdravlja životinja u uslovima intenzivne proizvodnje. Jedan od najvećih problema u primeni imunomodulatornih supstanci leži u činjenici da jedna te ista supstancija, u zavisnosti od načina i režima doziranja, može delovati imunosupresivno ili imunostimulatorno. Ovi efekti zavise i od trenutnog funkcionalnog stanja imunskog sistema samog pacijenta. Osim prikaza literaturnih podataka, izneta su i sopstvena iskustva autora proizašla iz brojnih laboratorijskih ispitivanja i ogleda na farmama. Ona se pre svega odnose na primenu manan-oligosaharida u povećanju stepena resorpcije kolostralnih imunoglobulina kod teladi i prasadi, primenu manan-oligosaharida u terapiji puerperalne disgalaksije krmača, primenu ekstrakta goveđeg timusa kod pacova sa imunosupresijom izazvanom jonizujućim zracima, primenu ekstrakta zida *Mycobacterium phlei* (*Mcb. phlei*) u poboljšanju reproduktivnih rezultata krmača, primenu ekstrakta ostriga u terapiji endometritisa krava i primenu visokih doza vitamina C u terapiji subkliničkih oblika mastitisa mlečnih krava. Takođe je opisana i imunomodulatorna uloga antihelminatika levamizola ispitana na modelu eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa pacova kao i uticaj ekstrakta kukureka (*Helleborus odorus* Waldst et Kit) na nespecifične odbrambene mehanizme pacova.

Ključne reči: antibiotici, domaće životinje, imunostimulacija

¹ Dr Miodrag Lazarević, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Srbija; Dr Aleksandar Milovanović, naučni saradnik. Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Srbija Kontakt adresa: lazarevicm@vet.bg.ac.rs

DOI: 10.7251/VETJ1701016L

UDK: 615.33.015.8:[619:616.993

Miodrag Lazarevic, Aleksandar Milovanovic¹

Review paper

APPLICATION OF SOME IMMUNOSTIMULATORS IN VETERINARY MEDICINE

Summary

This review article deals with the contemporary understanding of the action mechanisms, roles and possibilities for immunostimulatory substances usage in the veterinary medicine. Immunopharmacology is not that new branch of pharmacology, raised from the obvious need to influence functions of the immune system both in humans and animals by medicaments or other substances. In veterinary medicine immunostimulants are of special significance because there is a permanent need for animal's health protection under conditions of intensive production. Immunostimulants achieved a special significance since the total ban of antibiotics usage as growth stimulators resulting in reduced health protection, especially in the intensive production. One of the major problems regarding immunomodulators lays in the fact that the same drug, depending on the regime and dose, may exert both immunosuppressive and immunostimulatory effects. These effects are also dependent on the current status of the immune system functions of the particular patient. In addition to the literature data, we present our own experiences raised from the numerous laboratory investigations and field trials. This accomplish usage of mannan-oligosacharides in enhancing degree of absorption of colostral immunoglobulins in calves and piglets, application of the bovine thymic extract in irradiated immunosuppressed rats, usage of the mannan-oligosacharides in the therapy of puerperal dysgalactia in sows, usage of *Mcb. phlei* cell wall extract in improving reproductive results in sows, usage of the oyster extract in the therapy of cows endometritis and application of the high vitamin C doses in the therapy of subclinical mastites in dairy cows. Immunomodulatory effects of anthelmintic drug, Levamisole, in the model of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis of rats are described as well. In addition, we have investigated effects of *Helleborus odoratus* (Waldst et Kit) extracts on innate defense mechanisms in rats.

Key words: antibiotics, domestic animals, immunostimulation

¹ Full Professor Miodrag Lazarevic, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Belgrade, Serbia; Research Assistant Dr. Aleksandar Milovanovic, Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Serbia.

UVOD

Neprimerena i nekritična upotreba antibiotika kao stimulatora rasta u uzgoju domaćih životinja je trajala nekoliko decenija i na kraju dovela do nastanka brojnih rezistentnih i multirezistentnih bakterijskih sojeva što je ozbiljno ugrozilo zdravlje ljudi i u izvesnoj meri samih životinja, onemogućavajući efikasnu terapiju. Kako su dokazi za ovo bili više nego evidentni, u Evropi je 1. januara 2006, godine stupila na snagu potpuna zabrana upotrebe antibiotskih supstanci u ove svrhe. Takođe je ograničena i terapijska peroralna primena antibiotika kod životinja čije se meso i proizvodi koriste u ishrani ljudi. Zanimljivo je da se praktično nije ni znalo kojim mehanizmom antibiotici stimulišu rast i od uopštenog tumačenja da su životinje bile manje bolesne, odnosno više zdrave, pa su zbog toga i proizvodni rezultati bolji nije se daleko odmaklo. U nekoliko istraživanja je dokazano da primena pojedinih antibiotika može da dovede do porasta visine i ukupne površine crevnih resica ali ovi dokazi nisu bili sasvim ubedljivi. Sada se čini da tom fenomenu nije ni posvećivana potrebna pažnja jer je profit bio uvećan, a sve do pojave problema sa bakterijskom rezistencijom mislilo se da ni nema nekih negativnih posledica.

Zabrana upotrebe antibiotika kao stimulatora rasta u stočarskoj proizvodnji nametnula je potrebu za hitnim iznalaženjem alternativnih rešenja sa ciljem da se pre svega utiče na imunski sistem životinja kako bi se povećao nivo zdravstvene zaštite jedinki. Ovo je posebno značajno u

uslovima intenzivne proizvodnje kada se od njih očekuju intenzivan rast, ekonomski opravdan stepen konverzije hrane i visoka proizvodnja. Zbog toga se poslednjih godina u nauci velika pažnja posvećuje ispitivanju mehanizama delovanja, ulogama i mogućnosti primene imunostimulatornih supstanci u stočarstvu i veterinarskoj medicini. Posebno su značajna ispitivanja u oblasti terapije pojedinih oboljenja životinja supstancama koje ne dovode do pojave rezistencije. Iskustva stečena u veterinarskoj mogu svakako biti dragocena i u humanoj medicini.

U medicinskim naukama, imunomodulacija je oblast u kojoj se vrše obimna istraživanja sa ciljem da se razviju metode radi povećanja otpornosti na bolesti optimalnom regulacijom funkcija imunskog sistema. Većina infektivnih bolesti ljudi i životinja se još uvek može kontrolisati antibioticima i vakcinama, ali se usled nastanka bakterijske rezistencije, intenzivno traga za novim profilaktičkim i terapijskim strategijama. Posebnu teškoću u borbi sa infektivnim bolestima predstavljaju sve intenzivniji međunarodni saobraćaj, globalizacija i promene navika u ishrani (Dhama i sar. 2015). Prema nekim pesimističkim prognozama smatra se da posle 2020. godine antibiotici praktično neće više biti efikasni (Hancock i Sahl, 2006, Dhama i sar. 2013). U veterinarskoj medicini se pod imunomodulacijom podrazumeva sposobnost da se reguliše imunski odgovor radi povećanja otpornosti na infektivne agense i radi povećanja proizvodnih sposobnosti (Zhao i sar. 2012). Stimulacija imunskog se koristi da se spreči pojava zaraznih bo-

lesti vakcinacijom, pre svega humoralnim imunitetom ili da se kod već postojećih infekcija imunski odgovor preusmeri ka celularnom tipu reakcija. Ona takođe obuhvata i borbu protiv tumora primenom citokina, antititela specifičnih za tumorske ćelije ili limfocita koji ove ćelije prepoznaju. Imunosupresija se koristi pri lečenju alergija, autoimunih bolesti ili pri transplantaciji tkiva ili organa (Dhama i sar 2015). Isti autori navode osnovne ciljeve koje treba da ispune imomodulatorne supstance: da aktiviraju snažan imunski odgovor ili da prolongiraju već postojeći protiv infektivnog uzročnika bolesti; da ubrzaju sazrevanje nespecifičnih ili specifičnih imunskih mehanizama u neonatalnom periodu kod mladih i osetljivijih jedinki; da osnaže lokalne odbrambene mehanizme na posebno osetljivim mestima kao što su mlečna žlezda visoko mlečnih krava ili digestivni trakt mladih preživara; da umanje negativne efekte stresa i zagađenja životne okoline na imunitet; da pojačaju i produže imunski odgovor posle vakcinacije i da stimulišu imunološki nadzor. Autori takođe navode i karakteristike idealnih imunomodulatora. Oni treba: da se relativno brzo izlučuju iz organizma i da ne ostavljaju rezidue u tkivima; da stimulišu pecifični i nespecifični imunski odgovor; da imaju adjuvantni efekat ako se aplikuju zajedno sa vakcinom; da zadrže aktivnost kada se aplikuju *per os* i da budu stabilni nakon dodavanja u hraniva ili vodu za piće; da budu kompatibilni sa drugim lekovima kao što su antibiotici i antihelmintici; da pojačavaju primarni i sekundarni imunski odgovor na infektivne agense; da imaju defini-

san hemijski sastav i biološku aktivnost; da ne budu skupi; da ne budu toksični ni u većim dozama; da nemaju antigenska ni pirogena svojstva; da ne budu teratogeni niti kancerogeni i da se ne izlučuju mlekom ili preko jaja. Kao zaključak se u ovom radu navodi da modifikacije imunskog odgovora mogu da imaju sledeća tri cilja: da se on stimuliše ili suprimira kod normalnih jedinki ili da mu se povrate funkcije kod imuno-suprimiranih. Lako se može uvideti da su uslovi koje treba da ispunjava idealni imunostimulator brojni i da praktično nije ni moguće doći do supstance koja ih potpuno ispunjava.

Postoji nekoliko načina klasifikacije imunomodulatora na osnovu njihovog porekla i načina primene. Jednu od najnovijih i najdetaljnijih podela iznose Dhama i sar. (2015). Oni su ove supstance podelili na sledeće grupe: 1. Fiziološki produkti (neuroendokrini hormoni, produkti timusa, citokini, glukokortikosterodi, antimikrobni peptidi) 2. Mikrobni proizvodi (izolati poreklom od *Mycobacterium* vrsta, *Propionibacterium* vrsta, stafilokoka, brucela, bordetela, Termofilnih bakterija, Lipopolisaharidi Gram-negativnih bakterija, probiotici i prebiotici) 3. Sintetski hemijski agensi (levamizol, tiabendazol, avidin, glukani, indomethacin, talidomid, ciklosporini) 4. Biljni proizvodi (ekstrakti Aloe, kukureka, ginka) 5. Adjuvansi za vakcine 6. Dodaci hrani (vitamini – D, E, C, B₆ i B₁₂, mikroelementi – Se, Zn, Fe, Cu, J, polisaharidi – β-D-glukani i α-D-manani) i 7. Helminti i njihovi produkti. Na kraju se navode i neka nespecifična dejstva pojedinih vakcina na tumorske ćelije. Posebnu grupu imunomodula-

tora predstavljaju i neki proizvodi dobijeni iz mleka, gruševine, loja, urina i balege zebu govečeta koji se već vekovima koriste u Indiji tako da se ova terapija naziva još i kravljom terapijom (engl. *cowtherapy* – *cowpathy*). Pojedini ekstrakti iz ovih proizvoda su patentirani i prodaju se kao pomoćna lekovita sredstva.

Day i Schultz (2014) ističu da postoji veliki broj komercijalnih, registrovanih imunosupresora koji se koriste u terapiji, dok je broj imunostimulatora relativno mali i uglavnom se radi o biljnim ili bakterijskim ekstraktima, a da pri tome nema jasnih i ubedljivih dokaza o njihovom uticaju na imunske funkcije. Od komercijalnih preparata oni navode: Immunoregulin (dobijen iz *Propionibacterium acnes*), Regressin V (dobijen od mikobakterija), Staphoid AB (sadrži ekstrakt zida bakterije *Staphylococcus aureus* zajedno sa inaktivisanim toksinima A i B), Staphage lizat (nastao liziranjem *S. aureus*), muramil tripeptid u lipozomima (dobijen od zida mikobakterija) kao i preparate poreklom od gljivice *Serratia marcescens*. Dokazano je da preparati poreklom od mikobakterija stimulišu Th1 odgovor i da mogu, u nekim alergijskim stanjima, kao što je atopijski dermatitis pasa, da preusmere Th2 alergijski odgovor ka manje štetnom Th1 odgovoru uz evidentno kliničko poboljšanje. Isti autori navode da je u Evropi jedini zvanično registrovani imunostimulatorni preparat Baypamune® (sad Zylexis®) koji se dobija inaktivacijom Parapox virusa ovaca. Navodi se i da bakterijski i biljni ekstrakti utiču na sintezu i sekreciju mešavine većeg broja citokina što je bliže realnom stanju stva-

ri u organizmu jer ćelije imunskog sistema na taj način i odgovaraju na različite antigene.

U tekstu koji sledi biće izneta neka naša iskustva i rezultati dobijeni višegodišnjim ispitivanjima različitih imunomodulatora u oblasti veterinarske medicine. Osim toga, prikazali smo i relevantne literaturne podatke pojedinačno za svaku od ispitivanih supstanci.

PRIMENA MANAN- -OLIGOSAHARIDA (MOS) KAO IMUNOSTIMULATORA

Manan-oligosaharidi (MOS) su prebiotici koji mogu da spreče adheziju bakterija za mukozu zida creva i da neutrališu bakterijske toksine, a da pri tome ne oštećuju tkiva (Spring i sar., 2000). Zbog toga se ova jedinjenja, koja se mogu izolovati iz zida kvasaca, već više od 20 godina koriste kao dodaci stočnoj hrani. Osim toga, oni ispoljavaju pozitivan uticaj na životinje selektivnom stimulacijom rasta i aktivnosti apatogene (korisne) mikroflore digestivnog trakta. Sistemski pozitivni efekti MOS preparata se pripisuju dodatnoj resorpciji proizvoda fermentacije nastalih delovanjem korisnih bakterija i poboljšavanjem zdravstvenog statusa domaćina (Sims i sar. 2004).

Mi smo utvrdili da dodavanje manan-oligosaharida kolostrumu krava (5 g/L) pre napajanja ima za posledicu značajan porast resorpcije kolostralnih IgG kod neonatalne teladi (Lazarević 2003, 2005., Lazarević i sar., 2010, Šabanović 2005). Do sličnih rezultata su došli i Hengartner i sar. (2005). Titar anti BHV-1 an-

titela je nakon 24 sata po rođenju i posle 7 dana bio značajno veći u oglednoj grupi teladi u poređenju sa vrednostima registrovanim u kontrolnoj grupi (Šabano-
vić 2005). Na ovaj način je dokazano da se MOS preparati mogu svrstati u imunomodulatorne supstance jer dovode do poboljšanja prirodnog pasivnog imuniteta. Isti rezultat je potvrđen u brojnim ogledima kod prasadi kojoj je tokom prvog dana života peroralno aplikovano 10 mL suspenzije MOS preparata (75g/L u fiziološkom rastvoru) (Lazarević i sar. 2010, Tokić 2011). Takođe smo ispitivali i mogućnost primene MOS preparata u tretmanu puerperalnog endometritisa krmača. Preparat (Yeast Call Wall, Alltech, Fermin, Senta) je aplikovan kateterom u uterus u količinama od 5, 10 i 20 g suspendovan u 100 mL fiziološkog rastvora. U ovoj studiji nisu praćeni imunološki parametri ali je registrovano značajno kliničko poboljšanje kod tretiranih krmača kao i veći dnevni prirasti prasadi (Lazarević i sar. 2012, Miljas 2013). Najvažniji rezultat postignut ovim poslednjim ispitivanjima je sprečavanje negativnih posledica bakterijske infekcije preparatom koji ne spada u grupu antibiotika pa prema tome ne postoji ni mogućnost nastanka bakterijske rezistencije.

UTICAJ EKSTRAKTA GOVEĐEG TIMUSA NA IMUNSKI ODGOVOR OZRAČENIH PACOVA

Pojedini sastojci ekstrakta goveđeg timusa imaju imunomodulatorna svojstva i mogu, kod ljudi i životinja, sa suprimiranim funkcijama imunskog siste-

ma (humoralnim i/ili celularnim) dovesti do imunostimulacije. Opisivanje ovih efekata prevazilazi obim ovog rada tako da ćemo na ovom mestu izneti samo rezultate naše istraživačke grupe. Jovanović i saradnici (2006) i Jovanović (2007) iznose rezultate ispitivanja efekata preparata Thymex-L (THYMOORGAN-GmbH PHARMAZIE &Co. KG, Germany) dobijenog iz ekstrakta goveđeg timusa na parametre humoralnog imunskog odgovora pacova kod kojih je prethodno izvršeno jednokratno ozračivanje X zracima u dozi od 4 ili 6 Gy. U ovim studijama određivani su sledeći parametri: koncentracija interleukina 2 (IL-2), interferona γ (IFN- γ), koncentracija antitela posle vakcinacije i revakcinacije tetanusnim toksoidom (ATTx) i stepen kožne preosetljivosti na biljni mitogen PHA (engl. *phytohaemagglutinine*). Ispitivani ekstrakt je ispoljio pozitivan efekat na koncentraciju IL-2 i IFN- u serumu ozračenih pacova. Ovaj pozitivan efekat je, kod grupe pacova koja je primila nižu dozu zračenja, vidljiv već nakon 7. dana eksperimenta, dok je kod pacova ozračenih višom dozom pozitivan efekat registrovan 21. dana eksperimenta. Pri proceni stepena reakcije kožne preosetljivosti na PHA, registrovan je pozitivan efekat primenjenog ekstrakta timusa i on je bio izraženiji kod jedinki kod kojih je bila primenjena niža doza zračenja. Ispitivani ekstrakt goveđeg timusa je ispoljio pozitivan efekat i na koncentraciju ATTx i to već 14. dana eksperimenta.

PRIMENA EKSTRAKTA BAKTERIJSKOG ZIDA *MYCOBACTERIUM PHLEI* KAO IMUNOMODULATORA

Filion i saradnici (1999) opisuju mogućnost upotrebe ekstrakta ćelijskog zida *M. Phlei* u inhibiciji rasta karcinoma mokraćne bešike kod ljudi i miševa. Mehanizam dejstva nije u potpunosti rasvetljen, a autori smatraju da je antikancerogeni efekat ostvaren direktnim efektom na proliferaciju i preživljavanje kancerogenih ćelija i indirektno, proizvodnjom interleukina 12 (IL-12), citokina koji ispoljava aktivnost protiv ćelija raka. Rezultati njihovih ispitivanja opravdavaju upotrebu MCC (*Mycobacterial cell complex*) u terapiji karcinoma mokraćne bešike zbog direktne inhibicije ćelijske proliferacije indukcijom apoptoze i indirektnom anti-kancerogenom stimulacijom infiltracije makrofaga/monocita i sinteze IL 12. Bagnu i sar. (2012) su takođe ustanovili da je MCWE (*Mycobacterium cell wall extract*) dovoljan za antitumorsku aktivnost i da frakcija ćelijskog zida bogata proteinima dovodi do aktivacije faktora nekroze tumora (TNF- α) kao i interleukina IL-12.

Primena ekstrakta ćelijskog zida *M. phlei* kao imunomodulatora, bila je predmet istraživanja i u reprodukciji domaćih životinja pa su Christofersen i sar. (2012), u svojoj studiji ispitivali efekte imunomodulatorne terapije glukokortikosteroidima i ekstraktom MCW na gensku ekspresiju pro i anti inflamatornih citokina, interleukina (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ,

IL-1 receptor antagonista, proteina akutne faze i serumskog amiloida) u endometrijumu kobilu kod kojih je izazvan infektivni endometritis inokulacijom *E. coli*. Rogan i sar. (2007) su opisali uspešnu primenu imunomodulatora MCWE u terapiji endometritisa kobilu veštački izazvanih bakterijom *Streptococcus zooepidemicus*. Ispitivanjem imunoloških parametara i imunomodulatornih efekata ekstrakta MCWE bavili su se i Fumuso i sar. (2007). U grupi kobilu, posle tretmana sa MCWE, utvrđen je značajno viši nivo IL-10 ($p < 0,05$). Fumuso i sar. (2003), su ispitivali endometrijalnu ekspresiju mRNA pro-inflamatornih citokina IL-1 β , IL-6, TNF- α kod kobilu otpornih i sklonih perzistentnom post inseminacionom endometritisu. Kao imunomodulator su koristili MCWE aplikovan u vreme osemenjavanja i dokazali značajan uticaj aplikacije MCWE na ekspresiju IL-1. Autori smatraju da imunomodulatorni efekat MCWE može značajno da pomogne u obnavljanju homeostatskih lokalnih inflamatornih mehanizama u materici i preventivi post inseminacionih endometritisa kobilu. Risvanli (2011) je takođe proučavao problematiku idiopatskih endometritisa kobilu sa imunološkog aspekta naglašavajući upotrebu imunoterapeutika kao moguće praktično rešenje problema.

O upotrebi MCWE kao imunoterapeutika kod svinja izveštavaju Vezina i saradnici (1997) navodeći da MCWE sadrži trehalozu dimikolat i muramil dipeptid koji imaju imunomodulatorna svojstva. Autori su ispitivali *in vitro* efekat MCWE na blastogenu aktivnost perifernih limfocita prasadi uzrasta 6–8 nedelja posle stimu-

lације mitogenima fitohemaglutininom (PHA) i konkanavalinom A (ConA). Укупни резултати указују да MCWE може да стимулише функционалну активност лимфоцита и експресију mRNA за цитокине код 6–8 недеља старе прасди свинја што наговештава његову потенцијалну употребу као клиничког имуно терапијског агенса.

Bray i sar. (2004), navode da je rani embrionalni mortalitet najvažniji faktor koji limitira veličinu legla i utiče na profitabilnost u proizvodnji свинја i да успешан graviditet захтева имунолошки рецептиван репродуктивни тракт као одговор на експозицију имуномодулаторних фактора пореклом из семене плазме. Имајући ово у виду (Vasiljević, 2015) је у једној веома опсежној студији доказала да је осеменјаване крмача мелеза Јоркшир x Landras, семеном нераста расе Дуроk са додатком екстракта ћелијског зида *Mycobacterium phlei* (Bioniche Animal Health, Canada), имало за последицу статистички значајно повећање броја опрашене и живо опрашене прасди када се посматрају све крмаче збирно као и код plotkinja са паритетом од 2 до 5, али не и код оних са паритетом од 6 до 9. У групи крмача осеменјаваних ејакулатом нераста са екстрактом ћелијског зида *Mycobacterium phlei* концепција је износила 100 % док је у контролној групи вредност овог параметра била 90 %. Крмаче осеменјаване семеном нераста расе Дуроk са додатком екстракта ћелијског зида *Mycobacterium phlei* имале су тежа легла и ова разлика је била веома високо значајна ($p < 0,001$). Овај степен разлике је уочен у свим групама plotkinja (све крмаче збирно, паритет 2–5 и паритет 6–9). Прасад крмача осеменја-

ваних семеном нераста расе Дуроk са додатком екстракта ћелијског зида *Mycobacterium phlei* су била тежа и ова разлика је била веома високо значајна ($p < 0,001$), када се посматрају све plotkinje збирно. У групама са паритетом од 2 до 5 и 6 до 9, разлике су биле високо значајне ($p < 0,01$). У оквиру ове студије је детаљно проучаван и утицај екстракта ћелијског зида *Mycobacterium phlei* на параметре квалитета нерастова расе Дуроk и нису запажени негативни ефекти. Његова примена при ВО крмача имала је за последицу повећање процента концепције, броја укупно и живо опрашене прасди, тежине легла и појединачне тежине прасди.

ALTERNATIVNI PRISTUP TERAPIJI ENDOMETRITISA KRAVA I KRMAČA INTRAUTERINIM IMUNO MODULATORIMA

У ветеринарској пракси се за третман ендометритиса кржава бактеријске етиологије углавном користе антибиотици, антисептици и хормони. Као што је већ истакнуто, лоша страна примене антибиотика је могућа бактеријска резистенција уз високе трошкове лечења и слабљење одбрамбених механизма материце. Недостатак примене антисептика је у неким случајевима некроза tkiva са дужим периодом опоравка (Zemjanis, 1980).

Посебну пажњу истраживача који су применјивали алтернативне методе у терапији ендометритиса кржава са асимптоматским стерилитетом привукли су гликоген ostriga, аутологна крвна плазма и бактеријски липополисахариди. Међутим, до сада, овај ме-

tod nije našao širu primenu u praksi. Prvi rad o intrauterioj terapiji ovog oboljenja objavio je Asbury, 1984. godine koji navodi da kliničku indikaciju predstavljaju slučajevi bez posebne bakteriološke etiologije endometritisa, a takođe i potreba za prevencijom rekurentnih endometritisa kobilu sklonih infekcijama materice posle pripusta. Ovaj autor navodi pozitivne efekte posle upotrebe homologne ili heterologne krvne plazme. Suština delovanja krvne plazme je opsonizacija mikroorganizama pomoću komponenata sistema komplementa (Asbury i Lyle, 1993). Uspeh tretmana endometritisa krvnom plazmom podržava i *in vitro* opservaciju da su opsonini iz seruma, pogotovo komponente sistema komplementa, bitan faktor u stimulaciji fagocitoze. Tretman kobilu intrauterinom infuzijom plazme bio je zasnovan na pretpostavci da je subfertilitet bio uzrokovan nedovoljnom koncentracijom komponenata sistema komplementa i da je krvna plazma uvek obilan izvor svih opsonina. Watson i Stokes (1987), navode da sekret materice kobilu sklonih endometritisu slabije stimuliše fagocitozu u odnosu na sekret dobijen od kobilu otpornih na endometritis. Håkansson i sar. (1993) su zaključili da komponente sistema komplementa znatno doprinose opsonizujućoj aktivnosti sekreta materice kobilu i pre nastanka inflamatornog odgovora u ovom organu.

Postoje podaci da je za intrauterinu infuziju korišćen i LPS (lipopolisaharid) *E. coli* u cilju povećanja influksa neutrofilnih granulocita u lumen materice kobilu (Williamson i sar., 1987) i krava (Hussain i Daniel, 1991.).

Pascoe (1995.) navodi da je za jednokratnu intrauterinu aplikaciju krvne plazme zajedno sa antibioticima, optimalni termin 12–36 sati nakon pripusta čime se znatno poboljšava koncepcija kako kod kobilu u laktaciji, tako i kod problematičnih kobilu. Koncepcija je nakon terapije bila gotovo istovetna kao kod pripusta virgilnih omica. Pretpostavljeni mehanizam delovanja navedene terapije zasnovan je tome što je krvna plazma izvor svežih opsonina koji pojačavaju hemotaksu i fagocitozu polimorfonuklearnih leukocita (PMNL). Povećanjem zapremine uterusa tokom tretmana toksini se razređuju, a dodavanjem antibiotika se uništavaju preostale bakterije.

Singh i sar. (2003) su koristili LPS *E. coli* rastvoren u sterilnom PBSu i aplikovali ga u materice 12 krava u toku estrusa, dok je kontrolna grupa od 12 krava dobila čist pufer (PBS). Sve krave su imale nalaze asimptomatskog steriliteta uz pozitivne bakteriološke nalaze. Već nakon 6 sati od infuzije došlo je do stotrukog povećanja broja ćelija u ispirku, pri čemu je 80% ćelija pripadalo neutrofilnim granulocitima. Visok broj neutrofilnih granulocita dijagnostikovao je i nakon 72 časa od aplikacije. Nakon ovog tretmana je 8 od 12 krava ostalo steono u oglednoj grupi, dok je u kontrolnoj grupi samo jedna plotkinja ostala steona. Autor navodi da je mehanizam pojačanog „priliva“ neutrofilnih granulocita verovatno posledica kombinovanog dejstva vazodilatacije, hemoatraktanata i povećane proizvodnje interleukina-1, interleukina-8 i drugih faktora koje luče granulociti i makrofagi ćelije kao što navodi Tizard (1996). Singh i

sar. (2003) navode da pri hroničnim bakterijskim infekcijama verovatno postoje inhibitori koji destimulišu odbrambenu ulogu materice jer je u ispicima materica od ovakvih plotkinja ustanovljen nizak broj ukupnih leukocita. Jedan od razloga može biti činjenica da postojeće bakterije nisu dovoljan podražaj za obilniju infiltraciju ili da postojeći PMNL brzo degenerišu. Neuspeh imunostimulatorne terapije kod pojedinih grla može se pripisati i sposobnosti nekih bakterija da prežive u fagozomu PMNL (Tizard, 1996). Takođe, hronična infekcija može dovesti do uništenja endometrijuma, što slabi odbrambenu moć materice i onemogućava nida-ciju embriona.

Singh i sar. (2003) su koristili i glikogen ostriga u terapiji endometritisa bakterijske etiologije. Ogledna grupa od 12 krava je dobijala 500 mg glikogena ostriga rastvorenog u 50 mL sterilnog fosfatnog pufera na dan estrusa. Dvanaest krava (kontrolna grupa) je dobilo samo rastvor fosfatnog pufera. Oko 80% ćelijske populacije ispirka materice pripadalo je PMNL (65% bile su žive ćelije, sa prosečnom fagocitozom od 5 bakterija). Povišeno prisustvo neutrofilnih granulocita u materici dokazano je tokom 72 sata nakon infuzije. Bakterijski negativni izolati kao i steonost nakon prvog osemenjavanja registrovani su u 66,67% slučajeva (8/12 u oglednoj grupi) i 8,33% (1/12 u kontrolnoj grupi).

Istovetan odgovor u masovnom privluku PMNL leukocita u lumen materice zdravih krava postignut je sa koncentracijama glikogena ostriga koje su varirale

između 0,1 i 10%, rastvorenih u 60 mL puferizovanog fosfatnog rastvora. Maksimalna vrednost broja PMNL zabeležena je 12 sati nakon administracije, sa čistom populacijom od 90% PMNL (Anderson i sar., 1985).

U prilog tezi da je u odbrani materice, vimena i drugih upalnih mesta bitan i broj prisutnih PMNL na mestu infekcije govore eksperimenti o infekcijama mlečne žlezde sa *Staph. aureus*. Paape i sar. (1981) su u *in vivo* eksperimentima dokazali da se ne može izazvati infekcija mlečne žlezde sa 23,8 do 115,0 CFU *Staph. aureus* sojem 305 kada je koncentracija somatskih ćelija bila $\geq 8,8 \times 10^5$ /mL. Unutar neutrofilnih granulocita, bakterije *Staph. aureus* se potom oslobađaju njihovim raspadom i apoptozom. Sa selekcijskog stanovišta, krave koje preslabo ili prejakoreaguju na infekcije sa PMNL, slabije kontrolišu porast *Staph. aureus* prilikom infekcije (Detilleux, 2004).

Mattos i sar. (1999) su napravili korak dalje u alternativnoj terapiji endometritisa kobila kada su zajedno sa homolognom krvnom plazmom koristili i leukocite dobijene spontanom sedimentacijom na koncentracionom gradijentu u rastvoru dekstroze. Ukupno je analizirano 342 pripusta (262 u laktaciji i 80 nepripuštenih, neždrebni („prazni” kobila). Ranim ehosonografskim pregledom u grupi kobila koje nisu bile ždrebne ustanovljen je značajno veći uspeh u koncepciji nakon tretmana krvnom plazmom i leukocitima (78,6%), nego kod kobila tretiranih oksitocinom (50,0%; $p < 0,05$) i kod netretiranih kobila. Nije bilo značajnih razlika u odnosu na grupu kobila koje su istovre-

meno tretirane kombinacijom plazma-leukociti i oksitocinom (69,2%). U prilog uspehu terapije autor navodi i činjenicu da su grupu tretiranu plazmom i leukocitima sačinjavale znatno starije kobile, kod kojih se mogla očekivati otežana koncepcija usled češćih degenerativnih i inflamatornih oštećenja endometrijuma.

U tom pravcu, radi praktičnije primene, Zerbe i sar. (2003) su usavršili tehniku izolacije i krioprezervacije leukocita radi lokalnog tretmana endometritisa. Izdvajanjem leukocita hipotoničnom lizom eritrocita, prikupljeno je 96,7% ćelija (97,1% živih), dok se sedimentacijom u dekstrozi, može dobiti 58,7% PMNL (od čega 97,8% živih). Štaviše, u odnosu na sveže PMNL, otopljeni PMNL su imali nešto viši fagocitni kapacitet za opsonizovane streptokoke (75%:70%). Sposobnost stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika je takođe bila veća, a ova aktivnost je trajala i nakon 6 sati od momenta odmrzavanja. Rezultati ovih ispitivanja ukazuju da se se nakon krioprezervacije PMNL može očuvati njihova funkcionalna sposobnost neophodna za terapijsku primenu kod kobile koje su podložne endometritisima.

U jednoj novijoj studiji Milovanović (2014) navodi da je najbolji uspeh u tretmanu krava sa bezsimptomskim sterilitetom postignut u grupi tretiranoj IU infuzijom rastvora glikogena ostriga i homologne krvne plazme (12/20 steonih; steonost 63,16%). Posle tretmana aplikacijom PGF steonost je bila 47,62% (20/42;), a Lugolovim rastvorom 25,00% (6/24). U kontrolnoj grupi (bez terapije) je bilo samo 30% steonih krava (3/10). Najmanji utrošak doza i najkraće vreme

potrebno do upešnog osemenjavanja (do 2 cikusa) je registrovano u grupi krava tretiranoj glikogenom ostriga (1,50 doza i 39,75 dana).

ULOGA VITAMINA C U IMUNITETU DOMAĆIH ŽIVOTINJA

Fiziološke posledice subkliničkog nedostatka askorbinske kiseline su multifaktorijalne i danas se smatra da je optimalan nivo askorbinske kiseline u organizmu od velike važnosti za efektivnost imunskog sistema (Bendich, 1989, 1992). Vitamin C može indirektno poboljšati imuni odgovor organizma, omogućavajući održavanje nivoa vitamina E u tkivima i zbog toga je on potreban za rast i oporavak tkiva u svim delovima tela.

Uloga vitamina C u imunitetu domaćih životinja, može se sagledati kroz ocenju antioksidativne sposobnosti i nivoa askorbinske kiseline u neutrofilnim granulocitima krvi, koji predstavljaju prvi odgovor imunog sistema organizma na infekciju (Anderson i sar., 1990; Bendich, 1989, 1992; Beisel, 1982; Gerber, 1975; Naresh i sar., 2003; Padayatty i sar., 2003; Ramanathan i sar., 2002; Roth i Kaeberle, 1985; Wróbel i sar., 2003).

Poznato je da patogeni organizmi, kao što su bakterije i virusi, mogu prouzrokovati proizvodnju slobodnih radikala u zaraženom domaćinu, pa samim tim i utiču na opadanje nivoa askorbinske kiseline i imunskih funkcija (Beisel, 1982). Shodno tome, optimalan nivo askorbinske kiseline i drugih antioksidativnih vitamina, kao što je vitamin E, utiče na značajno

smanjenje štetnog dejstva slobodnih radikalna i poboljšanje funkcije neutrofilnih granulocita (Politis i sar., 1995).

Smatra se da askorbinska kiselina štiti DNK ćelija od oštećenja slobodnim radikalima, sprečava infekcije jačanjem ćelijske membrane i pomaže u zaštiti fagocitnih ćelija od oksidativnog oštećenja (Nagórna-Stasiak i sar., 1997; Naresh i sar., 2003). Utvrđeno je i da su pojedini antioksidansi, uključujući i vitamin C, u stanju da spreče oštećenje leukocita u različitom stepenu. Tako se smatra da je stepen zaštite askorbinskom kiselinom 41%, α -tokoferolom 55%, a β -karotenom - 50% (Ramanathan i sar., 2002).

Nedostatak askorbinske kiseline može uticati na smanjenje sposobnosti ćelija da migriraju na mesto inflamacije, omogućavajući povećano oksidativno oštećenje neutrofila i smanjenu sintezu glavnog antimikrobnog agensa–hipohlorične kiseline, što se odražava i kroz negativan uticaj na proliferaciju limfocita. Ukoliko je nivo askorbinske kiseline optimalan, proliferacija limfocita se pravilno odvija (Anderson i sar., 1990), uz stimulisanu proizvodnju interferona (Gerber, 1975).

Neutrofilni granulociti sadrže oko 40-60 puta više vitamina C nego krvna plazma i dokazano je da su njihova pokretljivost i fagocitni kapacitet poboljšani nakon suplementacije vitaminom C (Roth i Kaeberle, 1985). Nivo askorbinske kiseline je visok u zrelim perifernim neutrofilnim granulocitima krvi (Padayatty i sar., 2003), ali načini njenog delovanja na nji-

hov metabolizam i funkciju su još uvek nedovoljno poznati. Dokazano je da C vitamin utiče na hemotaksiju i stepen fagocitoze (Goldschmidt, 1991).

Mlinar (2016) navodi da je kod krava, tretiranih supkutano velikim dozama C vitamina, registrovano statistički značajno povećanje procenta aktiviranih polimorfonuklearnih leukocita i monocita krvi ($p < 0,001$) uključenih u proces fagocitoze kao i veći intenzitet fagocitoze. Ovo nesporno govori o snažnom stimulativnom dejstvu vitamina C na odbrambeni sistem. Stimulativni efekti su zabeleženi i kod polimorfonuklearnih leukocita mleka ali je fagocitoza bila niskog intenziteta ($< 5\%$ aktivnih ćelija; $p < 0,05$). Isti autor je utvrdio da je procenat polimorfonuklearnih leukocita krvi koji su izvršili respiratorni prasak bio statistički značajno viši ($p < 0,05$) u grupi krava tretiranoj vitaminom C i zaključio da terapija subkliničkih mastitisa, visokim dozama vitamina C može biti prihvatljiva alternativa ili potpora antibiotskoj terapiji.

PRIMENA LEVAMIZOLA U MODELU EKSPERIMENTALNOG AUTOIMUNOG ENCEFALOMIJELITISA

Kao što je već izneto u uvodnom delu, široko primenjivani antihelmintik levamizol ispoljava i imunostimulatorne efekte. Međutim, u ogledima koji su bili postavljeni sa ciljem da se utvrdi njegovo delovanje kod životinja sa indukovanim

autoimunim poremećajem, ubedljivo je dokazano da ovaj lek dovodi do imunosupresije (Ilić, 2001, Ilić i sar. 2001a, Ilić i sar. 2001b). Ova ispitivanja su vršena na ženkama pacova soja Dark Agouti (DA) kod kojih izazvan eksperimentalni autoimuni encefalomijelitis (EAE). Kod obolelih jedinki je posle tretmana levamizolom dolazilo do odlaganja početka bolesti, ublažavanja kliničkih simptoma i ubrzanja oporavka. Step en izraženosti histopatoloških lezija u mozgu ženki sa izazvanim EAE je bio značajno manji ukoliko su tretirane levamizolom u dozi od 2,2 mg/kg svakog drugog dana od početka imunizacije. U venskoj krvi ovih jedinki došlo je do statistički značajnog porasta broja CD4-CD8+ limfocita u odnosu na netretiranu grupu.

PRIMENA EKSTRAKTA KUKUREKA (*H. ODORUS* W. ET K.) KAO IMUNOMODULATORA

Brojnim istraživanjima je potvrđeno da ekstrakt rizoma i korena kukureka ispoljava stimulatorne efekta na imunski sistem, a opisani su i imunosupresivni efekti. Još uvek međutim nisu dovoljno precizno upoznati mehanizmi kojima ekstrakt ove biljke ispoljava ovako kontradiktorne efekte. Ekstrakt rizoma i korena kukureka deluje na imunski sistem zavisno od doze, načina aplikacije i vrste procesa na koji deluje, tako da može ispoljiti stimulatorne ili supresorske efekte. Ovo je inače i generalna karakteristika brojnih imunomodulatornih substanci.

Bogdan i sar. (1989, 1990a) su transkutano implantirali rizom kukureka *H.*

purpurascens W. et K. ovcama, svinjama, kravama i konjima. Analiza diferencijalne krvne slike je potvrdila izraženu leukocitozu i neutrofiliju kod svih tretiranih životinja koja je trajala više od 6 dana (izuzev kod ovaca). Indeks fagocitoze neutrofilnih granulocita je takođe bio povećan, a vrednost ukupnog kapaciteta fagocitoze neutrofilnih granulocita povećala se više od 6 puta, pri čemu je utvrđena razlika bila statistički vrlo značajna posle 48h ($P<0,01$).

Iz ekstrakta rizoma i korena kukureka, Bogdan i sar. (1990b) su izolovali saponozide koje su aplikovali ovcama. Autori su utvrdili da je dinamika promena u broju neutrofilnih granulocita slična sa dinamikom promena u broju leukocita i da je najizraženija leukocitoza sa neutrofilijom postignuta nakon 24h. Utrošak glukoze od strane ćelija krvi je u proseku bio za 251% veći nakon aplikacije ekstrakta saponozida što je potvrdilo imunostimulativni efekat ovog preparata.

Prečišćeni ekstrakt *Helleborus* sp. ispoljava efekat potenciranja postvakcinalnog imunološkog odgovora, koji se može uporediti sa delovanjem drugih proizvoda korišćenih u istu svrhu (Bolte i sar. 2001). Ako se aplikuje teladima i junadima, istovremeno sa vakcinom protiv salmoneloze, on aktivira kako specifične (porast titra antitela), tako i nespecifične (povećanje broja leukocita, koncentracije properdina i lizozima) mehanizme imunološkog odgovora. Dobijeni rezultati su potvrdili da ekstrakt *Helleborus* sp. izaziva modifikaciju imunskog odgovora u stanjima primarne ili sekundarne imunodeficijenci-

je. Koncentracija gamaglobulina se povećala kod obe grupe, ali značajno više kod eksperimentalne. Kod obe grupe je konstatovan značajan porast broja leukocita posle 14 i 21 dana bez vidljive razlike među grupama, što se odnosi i na promene u broju neutrofilnih, eozinofilnih i bazofilnih granulocita. Koncentracija antitela kod tretirane grupe teladi je bila veća za 69,5% posle 7 dana, za 105,6% posle 14 dana i za 81,1% nakon 21 dana u odnosu na konstatovane vrednosti kod kontrolne grupe u istom vremenskom intervalu. Utvrđeno je i da prečišćeni ekstrakt *Helleborus* sp. stimuliše ćelijsku multiplikaciju, aktiviranje makrofaga i oslobađanje IL-2, TNF i interferona.

Ristoska (2002) opisuje uticaj ekstrakta rizoma i korena *H. odoratus* W. et K. aplikovanog intramuskularno, u dozi 450 µg/kg t.m., nazimicama u periodu polne zrelosti, u starosti od 8 meseci, na parametre krvne slike nakon 24h i utvrdila da on izaziva izraženu leukocitozu i da pozitivno utiče na reproduktivna svojstva, plodnost i broj živorođene prasadi. Tosevski i sar. (2004) su ispitivali uticaj ekstrakta cele biljke *H. odoratus* W. et K. Kod prasadi u starosti od 52 dana i dokazali izraženu leukocitozu i neutrofiliju, blagu monocitozu ali ne i promene u broju limfocita.

Analizirajući visoko prečišćeni ekstrakt *H. purpurascens* W. et K. (HP12) Kerrek (1997) je utvrdio da on deluje različito na aktivnost NK ćelija: kod reumatičnih pacijenata jasno se snižava patološki uvećana spontana citotoksičnost, dok se kod zdravih pacijenata spontana citotoksičnost neznatno povećava. Autor smatra

da izolovane aktivne supstance učesvuju u bioregulaciji $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ - ATP-aze i nekih drugih enzima, smanjenju oštećenja tkiva kod autoimunih bolesti, imunoregulaciji vezivanjem za Fc receptore i terapiji bola vezivanjem za nociceptore.

Ispitivanje uticaja ekstrakta rizoma i korena *H. odoratus* W. et K. na imunski sistem pacova soja Wistar, starosti 45 dana, sprovedli su Milanović i sar. (2004). Nakon 24h od tretmana određivan je ukupan broj leukocita i zastupljenost neutrofilnih granulocita. U ovom ogledu su dokazane statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u broju leukocita između kontrolne grupe i grupe kojoj je aplikovan ekstrakt kukureka. Razlika u broju i procentualnoj zastupljenosti neutrofilnih granulocita je bila statistički vrlo značajna ($P < 0,01$).

Davidović i sar. (2010) i Davidović (2013), su u svojim ispitivanjima dokazali da intramuskularna aplikacija vodenog i metanolnog ekstrakta kukureka (*H. odoratus* W. et K.) pacovima soja Wistar ima za posledicu dozno zavisnu leukocitozu i granulocitozu čak i posle tretmana deksametazonom. Ovi ekstrakti su dovodili i do limfopenije, ubrzavanja sedimentacije i smanjenja koncentracije serumskih albumina. Koncentracija haptoglobina je takođe bila povećana ali ne i kod jedinki kojima je prethodno aplikovan deksametazon. Dokazano je da vođeni i metanolni ekstrakt kukureka značajno povećavaju stepen fagocitoze i intenzitet oksidativnog praska neutrofilnih granulocita.

ZAKLJUČAK/CONCLUSION

Iz iznetih podataka može da se zaključi da imunostimulatori sve više dobijaju na značaju u humanoј i u veterinarskoј medicini, ali da njihova primena nije nimalo jednostavna. Poteškoće proizilaze iz činjenica da su neke od ovih supstanci toksične u većim dozama, da neke mogu da ispolje i supresivne efekte i da njihovi efekti u velikoj meri zavise od trenutnog funkcionalnog stanja imunskog sistema pacijenta (što takođe nije lako utvrditi). Zbog toga je pri upotrebi ovakvih supstanci neophodan veliki oprez mada ima i takvih preparata za koje se slobodno može reći da su dovoljno bezbedni. U svakom slučaju, kao i za svaki drugi lek, neophodni su konzistentni laboratorijski i jasni klinički dokazi da bi njihova primena postala deo rutinske medicinske prakse.

Napomena:

Rad je podrжан sredstvima projekta III 46002 iz programa integrisanih i interdisciplinarnih istraživanja finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA/REFERENCES

1. Anderson R., Smit M.J., Joone G.K., Van Staden A.M. (1990): *Vitamin C and cellular immune functions: protection against hypochlorous acid-mediated inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and ATP generation in human leukocytes as a possible mechanism of ascorbate mediated immunostimulation*, Annuals of the New York Academy of Sciences, 587:34–48.
2. Anderson K.L., Hamida N.A., Frank A., Whitmore H.L., Gustafsson B.K. (1985): *Collection and phagocytic evaluation of uterine neutrophilic leukocyte*, Theriogenology 24, 205–15.
3. Asbury A.C. (1984): *Uterine defense mechanism in mare; The use of intrauterine plasma in the management of endometritis*, Theriogenology, 21: 378–93.
4. Asbury A.C., Lyle S.K. (1993): *Infectious causes of infertility*, Ch 43, McKinnon AO i Voss JL, Equine Reproduction, Blackwell Publisher,
5. Baǧnu O., Esra B., Keskin M., Celikbicak O., Salih B. Alp A. (2012): *Therapeutic effects of Mycobacterium phlei cell wall extracts*, Turkish Journal of Medical Science, 42, 2, 193–9.
6. Beisel W.R. (1982): *Single nutrients and immunity*, American Journal of Clinical Nutrition, 35 (2 Suppl):417–68.
7. Bendich A. (1989): *Antioxidant Vitamins and Their Functions in Immune Responses*, In: Bendich A, Phillips M, Tengerdy RB, editors, Antioxidant nutrients and their immune functions, New York: Plenum Publishing Co. 408–21.
8. Bendich A. (1992): *Ascorbic Acid and Immune Functions*, In: Wenk C, Fenster R, Volkerl L, editors, Ascorbic acid in domestic animals, Zurich: Institut fur Nutzliervissenschaften.
9. Bogdan I., Bașea I., Nechifor A.,

- Hruban E., (1989)L: *Cercetări privind efectul implantului de spin (Helleborus purpurascens L.) la bovine, cabaline, ovine și porcine*, Bulletin IACN, ZMV, 43, 67–72.
10. Bogdan I., Nechifor A., Bășea I., Hruban E. (1990a), *Aus der rumänischen Volksmedizin: Unspezifische Reiztherapie durch transkutane implantation der Nieswurz (Helleborus purpurascens, Fam. Ranunculaceae) bei landwirtschaftlichen Nutztieren*, Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 97, 12, 525–9.
11. Bogdan I., Nechifor A., Ghițulescu C. (1990b): *Experimentarea a trei variante de extract injectabil de spînz (Helleborus purpurascens, fam. Ranunculaceae) la ovine*, Simpozionul Actualitati in patologia animalelor, Cluj-Napoca, XVII, 31–44.
12. Bolte S., Petruț H., Trif R. (2001): *Imunostimularea cu extract de Helleborus spp.*, Lucrări științifice med. vet., XXXIV, Timișoara, 79–86.
13. Bray M., O’Leary S., Brooke G., Maddocks S., Armstrong D.T. (2004), *Novel Immune Modulation to Improve Reproductive Outcomes in Pigs*, Research Centre for Reproductive Health, The University of Adelaide, Woodville, SA, Australia; 2SARDI, Livestock Systems, Roseworthy, SA, Australia.
14. Christofersen M., Woodward E.M., Bojesen A.M., Petersen M.R., Squires E.L., Lehn-Jensen H., Troedsson M.H.T. (2012): *Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares*, Theriogenology, 78, 5, 991–1004.
15. Davidović V. (2013): *Uticaj sastojaka kukureka (Helleborus odoratus Waldst et Kit) na hematološke parametre, proteine akutne faze i funkcije neutrofilnih granulocita pacova*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1–322.
16. Davidović V., Lazarević M., Joksimović-Todorović M., Maksimović Z., Jovanović M. (2010): *The effect of extract of rhizome and root of Hellebore (Helleborus odoratus W et K) on parameters of white blood count and degree of phagocytosis in Wistar rats*, Acta Veterinaria, Belgrade, 60, 5–6, 605–18.
17. Day M.J., Shultz R.D. (2014), *Immunotherapy*, In Veterinary Immunology - Principles and Practice, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, London New York.
18. Dettloux J.C. (2004): *Neutrophils in the War Against Staphylococcus aureus: Predator-Prey Models to the Rescue*, Journal of Dairy Science, 87:3716–24.
19. Dhama K., Chakraborty S., Tiwari R. (2013): *Panchgavya therapy (Cowpathy) in safeguarding health of animals and humans*, A review, Research and Opinions in Animal and Veterinary Sciences, 3:170–8.
20. Dhama K., Saminathan M., Jacob S.S., Singh M., Karthik K., Amar-

- pal M., Tiwari R, Sunkara L.T., Malik YS, Singh R.K. (2015), *Effect of immunomodulation and Immunomodulatory Agents on Health with Some Bioactive Principles, Modes of Action and Potent Biomedical Applications*, International Journal of Pharmacology, 11, 4, 253–90.
21. Fillion M.C., Lepicier P, Morales A., Philips N.C. (1999): *Mycobacterium phlei cell wall complex directly induces apoptosis in human bladder cancer cells*, British Journal of Cancer, 79, 2, 229–35.
 22. Fumuso E., Giguère S., Wade J., Rogan D. Videla-Dorna I., Bowden R.A. (2003): *Endometrial IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha, mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis. Effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation*, Veterinary Immunology and Immunopathology, 96,1-2, 31–41.
 23. Fumuso EA, Aguilar J, Giguère S, Rivulgo M, Wade J, Rogan D. (2007), *Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: effects of immunomodulation*, Veterinary Immunology Immunopathology, 118, 1–2, 30–9. E pub 2007 May 3.
 24. Gerber W.F. (1975): *Effect of ascorbic acid, sodium salicylate and caffeine on the serum interferon level in response to viral infection*, Pharmacology, 13, 3:228-33.
 25. Goldschmidt M.C. (1991): *Reduced bactericidal activity in neutrophils from scorbutic animals and the effect of ascorbic acid on these target bacteria in vivo and in vitro*, American Journal of Clinical Nutrition, 54 (6 Suppl):1214S-1220S.
 26. Håkansson A., Albihn A., Magnusson U. (1993): *The contribution of complement to opsonic activity in the uterine secretions of mares free of endometritis*, Theriogenology, 39, 3, 601–9.
 27. Hancock R.E.W., Sahl H.G. (2006), *Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic*, National Biotechnology, 24: 1551–7.
 28. Hengartner B., Henggeler M., Kohler S., Spring P. (2005): *Effects of dietary mannan-oligosaccharide on plasma Ig G concentrations in piglets*, Proceedings of Antimicrobial Growth Promoters: Worldwide Ban on the Horizon, Noordwijk aan Zee, The Netherlands, 101.
 29. Hussain A.M., Daniel R.C.W. (1991): *Bovine endometritis: current and future alternative therapy*. Zentralblatt zur Veterinarmedizin A. Nov, 38 (9):641–51. Review.
 30. Ilić V. (2001): *Ispitivanje imunomodulatornih uloga levamizola na modelu eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa pacova soja Dark Agouti*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1–117.
 31. Ilić V., Lazarević M., Rauški A., Popović N., Kosec D. (2001a), *Levamisole modulates experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in DA rats*, Acta Veterinaria, Belgrade, 51, 2-3, 89–101.

32. Ilić V., Lazarević M., Rauški A., Popović N. (2001b): *The influence of levamisole on clinical signs and histopathological changes in the brains of DA rats with experimentally induced autoimmune encephalomyelitis*, Folia Veterinaria, 45, 4, Suppl., 20–3.
33. Jovanović M., Lazarević M., Popović N., Đurđević D. (2006): *The influence of thymic extract on hematological parameter values in irradiated Wistar rats*, Acta Veterinaria, Belgrade, 56, 2–3, 137–48.
34. Jovanović M. (2007): *Ispitivanje uticaja ekstrakta goveđeg timusa na imunski odgovor pacova izloženi različitim dozama jonizujućeg zračenja*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1–224.
35. Kerek F. (1997): Offenlegungsschrift, Patentnummer: DE 196 00 301 A1, Bioregulatorischer Wirkstoff, Verfahren zu seiner Herstellung sowie dessen Verwendung, Deutsches Patentamt, München, Germany.
36. Lazarević M. (2003): *Mannan-oligosaccharides enhance absorption of colostral Ig G in newborn calves and piglets*, Poster presented at Alltech's Annual Nutritional Biotechnology in the Feed & Food Industries Symposium, Lexington.
37. Lazarević M. (2005): *Mannan-oligosaccharides enhances absorption of colostral Ig in newborn calves and piglets*. In Proceedings of the 56th Meeting of the European Association for Animal Production, Uppsala, Sweden (ed. Y. van der Honing), Wageningen Academic Press, Wageningen, The Netherlands, 153.
38. Lazarević M., Milovanović A., Barina T., Miljas N., Milanov D. (2012): *Endometritis therapy in sows by intrauterine instillation of yeast cell wall solution*, Acta Veterinaria, Belgrade, 61, 5–6, 611–27.
39. Lazarević M., Spring P., Shabanović M., Tokić V., Tucker A.L. (2010): *Effect of gut active carbohydrates on plasma IgG concentrations in piglets and calves*, Animal, 4, 6, 438–43.
40. Mattos R.C., Meirelles L.S., Malschitzky E., Castilho L.F.F., Neves A.P., Mattos A.L.G., Viera M.J., Keller A., Hott A.K., Gregory R.M. (1999): *Oxytocin, plasma containing leukocytes or combination of both as treatment of postbreeding endometritis in the horse*. Pferdeheilkunde, 15, 584–7.
41. Milanović S., Lazarević M., Jovanović M. (2004): *Uticaj ekstrakta korena Helleborus odoratus na imunski sistem pacova soja Wistar*, Zbornik radova, 6. međunarodno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja "Clinica veterinaria", Budva, 355–7.
42. Miljas N. (2013): *Primena mannan-oligosaharida u terapiji puerperalne infekcije uterusa krmača*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija, 1–107.

43. Milovanović A. (2014): *Ispitivanje uticaja funkcionalne aktivnosti neutrofilnih granulocita i progesteronskog profila na razvoj poremećaja u reprodukciji krava*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1–235.
44. Mlinar S., 2016, *Uticaj visoke doze C vitamina na funkcije neutrofilnih granulocita visoko-mlečnih krava sa subkliničkim masitisima*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1–276.
45. Nagórna-Stasiak B., Lechowski J., Kowalczyk M. (1997): *The effect of vitamin E on ascorbic acid synthesis in chicken*, Medycyna Weterynaryjna, 53, 4, 224–6.
46. Naresh R., Dwivedi S.K., Swarup D., Patra R.C. (2003): *Effect of ascorbic acid on milk lead and cadmium level on subclinical and clinical cases of mastitis*, Bulletin of Environmental and Contamination Toxicology, 71, 5:899–904.
47. Paape M.J., Schultze W.D., Guidry A.J., Kortum W.M., Weinland B.T. (1981): *Effect of an intra-mammary polyethylene device on the concentration of leukocytes and immunoglobulins in milk and on the leukocyte response to Escherichia coli endotoxin and challenge exposure with Staphylococcus aureus*, American Journal of Veterinary Research, 42, 774–83.
48. Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H. et al. (2003): *Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention*, Journal of American College Nutrition, 22, 1:18–35.
49. Pascoe D.R., (1995): *Effect of adding autologous plasma to an intrauterine antibiotic therapy after breeding on pregnancy rates in mares*, Biol Reprod Mono, 1, 539–43.
50. Politis I., Hidiroglou M., Batra R.T., Gilmore J.A., Gorewit R.C., Sherf H. (1995): *Effects of vitamin E on immune function of dairy cows*, American Journal of Veterinary Research, 56, 2:179–84.
51. Ramanathan K., Balakumar S., Panneerselvam C. 2002: *Effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol on arsenic-induced oxidative stress*, Human and Experimental Toxicology, 21, 12:675–80.
52. Ristoska D. (2002): *Vlijaniето na ekstraktот od Helleborus odorus врз krvnata slika i proteinemijata kaj svinjite*, Magistarska teza, Skoplje.
53. Risvanli A. (2011), *Reproductive Immunology in Mares*, Asian Journal of Animal Vetererinary Advances, 6, 6, 545–54.
54. Rogan D., Fumuso E., Rodriguez E., Wade J., Sanchez-Bruni S.F. (2007): *Use of a Mycobacterial Cell Wall Extract (MCWE) in Susceptible Mares to Clear Experimentally Induced Endometritis With Streptococcus zooepidemicus*, Journal of Equine Veterinary Sciences, 27, 3, 112–7.
55. Roth J.A., Kaeberle M.L. (1985): *In vivo effect of ascorbic acid on neutrophil function in healthy and dexamethasone treated cattle*,

- American Journal of Veterinary Research, 46, 12, 2434–6.
56. Šabanović M. (2005): *Ispitivanje uticaja manan-oligosaharida na resorpciju kolostralnih imunoglobulina kod teladi*, Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet Sarajevo, Federacija BiH, 1-110.
57. Sims M.D., Dawson K.A., Newman K.E., Spring P., Hooge D.M. (2004): *Effects of dietary mannan-oligosaccharide, bacitracin methylene di-salicylate or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys*, Poultry Science, 83: 1148–54.
58. Singh J., Nanda A.S., Dhaliwal G.S. (2003): *Treatment of bacterial endometritis in crossbred cows using intrauterine oyster-glycogen, a non-specific immunomodulator*, Indian Journal Animal Science, 73, 8, 844–7.
59. Spring P., Wenk C., Dawson K.A., Newman K.E. (2000): *The effect of dietary mannan-oligosaccharides on caecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the caeca of Salmonella-challenged broiler chicks*, Poultry Science, 79: 205–11.
60. Tizard I.R. (1996): *Hypersensitivity*, 343–401, in Veterinary Immunology, An Introduction, WB Saunders Co., Philadelphia, PA.
61. Tokić V. (2011): *Uticaj manan-oligosaharida na biohemijski profil i prirast prasadi do momenta zalutjenja*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija, 1–89.
62. Tosevski J., Ulčar I., Hajrulai-Musliu Z., Ristoska D., Lončarević A. (2004): *Primena mitogenih sastojaka biljnog porekla u veterinarskoj praksi*, Zbornik radova, 6. međunarodno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja “Clinica veterinaria” Budva, 100–6.
63. Vasiljević T. (2015): *Uticaj ekstrakta Mycobacterium phlei dodatog u seme nerasta, na kvalitet ejakulata, koncepciju krmača i veličinu legala*, Specijalistički rad, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija, 1–112.
64. Vézina S.A., Archambault D. (1997): *Modulatory effect of mycobacterium cell wall extract (Regressin) on lymphocyte blastogenic activity and macrophage cytokine gene transcription in swine*, Clinical Diagnostics and Laboratory Immunology, 4, 3, 314–20.
65. Watson E.D., Stokes C.R. (1987): *Cellular and humoral mechanism in mares susceptible and resistant to persistent endometritis*, Veterinary Immunology Immunopathology, 16: 107–21.
66. Williamson P., Manyua R., Martin R., Penhale W.J. (1987): *Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxin infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare*, Journal of Reproduction and Fertility, Suppl, 35, 317–25.
67. Wróbel A., Łukaszyńska B., Kędzierska J. (2003): *The effect of pe-*

roxynitryte and some antioxidants on the rate of osmotic hemolysis of bovine erythrocytes, Cellular and Molecular Biology Letters, 8, 2 :455–60.

68. Zemjanis R. (1980): "Repeat breeding" or conception failure in cattle. D.A. Morrow (Editor), Current Therapy in Theriogenology, W.B. Saunders, Philadelphia, 205–13.
69. Zerbe H., Castilho L.F., Engelke F., Mattos R.C., Schubert H.J., Klug E., Leibold W. (2003): *Isolation and cryopreservation of functionally*

competent equine leucocytes, Journal of Veterinary Medical Association Physiology, Pathology and Clinical Medicine, 50, 4, 179–84.

70. Zhao X., Li R., Huang J., Li J., Hou M., Zhong J. (2012) *Association of some physiological factors and milk performance in Chinese Holstein*, Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 7:1356–63.

Rad primljen: 18.5.2017.

Rad odobren: 03.8.2017.



DOI: 10.7251/VETJ1701037D

UDK: 637.524.053

Mirjana Dimitrijević¹, Nevena Ilić¹, Nedeljko Karabasil¹, Vlado Teodorović¹,
Dragan Vasilev¹, Snežana Vučinić², Dejan Lausević²

Pregledni rad

VIRUSI - AKTUELNI ALIMENTARNI PATOGENI

Kratak sadržaj

Virusne infekcije prenosive hranom sve se češće javljaju u mnogim delovima sveta. Procena realne zastupljenosti virusnih bolesti koje se prenose putem hrane otežana je usled neprijavlivanja infekcija i nepostojanja sveobuhvatnih sistema za nadzor. Nekoliko grupa virusa može izazvati oboljenje ljudi nakon konzumacije kontaminirane hrane. Na osnovu simptoma infekcije, mogu se razvrstati na: one koji izazivaju gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Rotavirus-HRV*, *Astrovirusi*, *Adenovirusi* i *Sapovirusi*), zatim one koji iz creva migriraju u jetru i uzrokuju hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*) i virusi koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovode jedino ako migriraju u druge organe, na primer u centralni nervni sistem (*Enterovirusi*). Trenutno najznačajniji alimentarni patogeni su Norovirus (NoV) i Hepatitis A virus (HAV). Svi pomenuti virusi se šire fekalnom kontaminacijom, ali i direktnim kontaktom ili transmisijom virusnih čestica putem aerosola. Hrana može biti primarno kontaminirana virusom ili naknadno tokom čitavog lanca hrane. Virusi se u njoj ne razmnožavaju, ali mogu opstati duži vremenski period ili u samoj hrani, ili kao infektivne čestice u okruženju. Danas dostupna Real Time RT-PCR metoda je glavna tehnika detekcije virusa u hrani, vodi i drugim uzorcima. Kao preventivne i kontrolne mere u sprečavanju virusnih infekcija preko hrane preporučuju se: podizanje svesti rukovaoca hranom; standardizacija metoda za detekciju virusa u hrani; razvoj laboratorijski baziranog nadzora za otkrivanje izvora epidemije u ranoj fazi, kao i naglašavanje značaja razmatranja virusa u integrisanim sistemima za bezbednost hrane (GHP, GMP, HACCP). Osim toga, naglašava se i značaj uvođenja monitoringa virusa u hrani, u cilju poboljšanja zaštite javnog zdravlja.

Ključne reči: virusi, bezbednost hrane, kontrolne mere

-
- 1 Mirjana Dimitrijević, vanredni profesor; Nevena Ilić, asistent; Nedeljko Karabasil, vanredni profesor; Vlado Teodorović, redovni profesor; Dragan Vasilev, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija
Kontakt: Mirjana Dimitrijevic, e-mail: mirjana@vet.bg.ac.rs
 - 2 Snežana Vučinić, specijalista higijene i tehnologije namirnica živ. porekla; Dejan Laušević, DVM, Specijalistička veterinarska laboratorija, Bul. Džordža Vašingtona, bb p.fah 69, 81000 Podgorica, Crna Gora
Kontakt: Mirjana Dimitrijevic, e-mail: mirjana@vet.bg.ac.rs

DOI: 10.7251/VETJ1701037D

UDK: 637.524.053

Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil, Vlado Teodorović,
Dragan Vasilev, Snežana Vučinić, Dejan Lausević*

Review paper

VIRUSES- CURRENT FOODBORNE PATHOGENS

Abstract:

Foodborne viruses are becoming more frequent, in many parts of the world. The presence of foodborne viruses is not real, because of the low number of reported infections, the lack of comprehensive system for monitoring. Several groups of viruses, after consumption of contaminated food, can cause human disease. Based on symptoms of an infection, viruses can be classified into: those that cause gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Rotavirus-HRV*, *Astrovirus*, *Adenovirus* and *Sapovirus*), those that migrate from the intestine to the liver and cause hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*), and viruses which multiply in the intestine, migrate to other organs, for example in the central nervous system (*Enterovirus*) and cause disease. Currently, the most important foodborne pathogens are Norovirus and hepatitis A virus. All viruses are transmitted by fecal contamination, but also by direct contact or viral particles in aerosol. The food can be contaminated with virus directly, or throughout the food chain. Viruses can't reproduce in food, but can survive long time in food, or as infectious particles in the environment. Real Time RT-PCR method is the main technique for detection of norovirus in food. Preventive and control measures recommended: raising awareness of food handlers; standardization of methods for virus detection; development laboratories to discover the origin of the epidemic in the early stages, emphasizes the importance of the virus in integrated systems for food safety (GHP, GMP, HACCP). In addition, work on the introduction of monitoring of viruses in food, in order to improve the protection of public health.

Key words: viruses, food safety, control measures

UVOD

Namirnice koje se koriste u ishrani

ljudi mogu biti izvor širokog spektra
uzročnika bolesti prenosivih hranom i

* Mirjana Dimitrijević, Nevena Ilić, Neđeljko Karabasil, Vlado Teodorović, Dragan Vasilev, Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Belgrade, Serbia;
Snežana Vučinić, Dejan Laušević, Specialist Veterinary Laboratory, Bul. Dzordza Vašingtona, bb p.fah 69, 81000 Podgorica, Montenegro

njihovom konzumacijom može doći do oboljenja. Iako su već poznati patogeni uglavnom pod kontrolom, epidemiološka situacija se stalno menja pojavom novih uzročnika oboljenja koji se prenose putem hrane. Nedavna istraživanja pokazuju da se virusne infekcije prenosive hranom javljaju u mnogim delovima sveta i da postaju vodeći alimentarni patogen. Na viruse naročito treba obratiti pažnju, jer se drugačije ponašaju od bakterija, pa su se kontrolne mere koje se koriste za uništavanje bakterija pokazale kao neefikasne. Neprijavljivanje infekcija i nedostatak sistema za nadzor, kao i nemogućnost postojećih sistema da odrede proporciju između bolesti prenosivih hranom u odnosu na druge uobičajene puteve prenosa, otežavaju procenu realne zastupljenosti virusnih bolesti koje se prenose putem hrane (EFSA, 2015).

Nekoliko grupa virusa može izazvati oboljenje ljudi nakon konzumacije kontaminirane hrane. Na osnovu simptoma infekcije, mogu se razvrstati na:

- one koji izazivaju gastroenteritis (*Norovirus-NoV*, *Humani Rotavirus-HRV*, *Astrovirusi*, *Aichi virus*, *Adenovirusi* i *Sapovirusi*),

- oni koji iz creva migriraju u jetru i uzrokuju hepatitis (*Hepatitis A-HAV* i *Hepatitis E-HEV*) i
- virusi koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovode jedino ako migriraju u druge organe, na primer u respiratorni ili centralni nervni sistem (*Enterovirusi*).

Takođe, mora se razmotriti i potencijalan prenos preko hrane takozvanih „emerging” virusa (*Nipah virus*, *Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) virus*, *SARS-causing Coronavirus*). Iako je fekalno-oralni način prenosa malo verovatan, ipak je zabeležen kod primarno respiratornih patogena, kao što su *Nipah virus*, *HPAI virus* i *SARS-CoV*. Virus *Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI)* je izolovan iz zamrznutog mesa, što govori o mogućem širenju ovog virusa u lancu hrane. Različite grupe virusa, većinom iz familija virusa životinja, može biti prisutno u ljudskom i životinjskom fecesu i urinu (Tabela 1). Važno je istaći da oni mogu dospeti u životnu sredinu, kontaminirati hranu, vodu za piće i kupališta i da se dalje prenose ponovo na prijemčive osobe i tako nastavljaju ciklus infekcije (WHO, 2015).

Tabela 1. Virusi koji izazivaju oboljenja ljudi a potencijalno se mogu preneti putem životne sredine (Sagar, 2006).

ROD	POPULARAN NAZIV	BOLEST
Enterovirus	Polio	Paraliza, meningitis, groznica
	Coxsackie A, B	Herpangina, Meningitis, groznica, Respiratorne bolesti, bolesti prljavih ruku, miokarditis, srčane anomalije, osip, pleurodinija, dijabetes
	Echo	Meningitis, groznica, respiratorne bolesti, osip, gastroenteritis
Hepatovirus	Hepatitis A	Hepatitis
Reovirus	Human reovirus	Nepoznata
Rotavirus	Human rotavirus	Gastroenteritis
Mastadenovirus	Human adenovirus	Gastroenteritis, respiratorne bolesti, konjunktivitis
Norovirus	Norwalk-like virus	Gastroenteritis
Sapovirus	Sapporo-like virus	Gastroenteritis
Hepervirus	Hepatitis E	Hepatitis
Mamastrovirus	Human astrovirus	Gastroenteritis, respiratorne bolesti,
Parvovirus	Human parvovirus	Gastroenteritis
Coronavirus	Human coronavirus	Gastroenteritis,
Torovirus	Human torovirus	Gastroenteritis

VIRUSI PRENOSIVI HRANOM

Karakteristike virusa koji putem hrane dovode do oboljenja ljudi predstavljaju nove izazove za upravljanje rizikom. Između ovih virusa i bakterija postoje jasne razlike u morfologiji, infektivnosti i epidemiologiji. Trenutno najznačajniji alimentarni patogeni, s obzirom na broj obolelih i izazvanih epidemija, naročito u razvijenim zemljama sveta su *Norovirus (NoV)* i *Hepatitis A virus (HAV)*. *Rotavirusi*, *Enterovirusi* i *Astrovirusi* su takođe zastupljeni, ali u manjoj meri (Smits, 2017). Virusi

koji se prenose hranom i uzrokuju bolesti poreklom su od ljudskog fekalnog materijala. Hrana može biti kontaminirana virusom primarno, ili naknadno tokom čitavog lanca hrane, pri čemu se virusi u njoj ne razmnožavaju, ali mogu opstati duži vremenski period, ili kao infektivne čestice u okruženju. Zbog sve veće globalizacije i veće potrebe tržišta, izvor i kvalitet svežih proizvoda često se ne može uvek prepoznati i kontrolisati. Iako se pretpostavlja da je sveža hrana „čista i zdrava“, to ne mora biti uvek slučaj, posebno kada se uvozi iz zemalja gde kriterijumi op-

šte higijene ne ispunjavaju međunarodne standarde. Ovaj podatak, u kombinaciji sa velikim brojem epidemija povezanih sa kontaminacijom svežih proizvoda, doveo je zabrinutosti potrošača za bezbednost hrane uvezene iz drugih zemalja sveta. Prenos zoonotskih virusnih infekcija preko hrane retko se spominje, međutim u nekim zemljama identifikovan je rizik od zoonotskih virusnih bolesti preko mesnih proizvoda, kontaminiranih virusima i to za virus hepatitisa E (HEV) i tick-borne virus encefalitisa (TBE). HEV je verovatno prvi virus za koji je ustanovljeno da se kao zoonoza može preneti putem hrane (Ricci i sar., 2017).

U Republici Srbiji, usled nedovoljnih i neujednačenih laboratorijskih mogućnosti, epidemiološka situacija virusnih bolesti prenosivih hranom je još uvek nedovoljno poznata. Epidemije se registruju na području Beograda od 2010. godine, od kada su u Centru za mikrobiologiju Gradskog zavoda za javno zdravlje (GZZJZ) uvedene laboratorijske metode za detekciju ovih uzročnika u uzorcima fecesa. U periodu od 2011. do 2015. godine u Beogradu je registrovano 8248 osoba obolelih od 17 crevnih zaraznih bolesti i zoonoza koje se dominantno prenose hranom. U posmatranom petogodišnjem periodu u Beogradu, samo od crevnih zaraznih bolesti su registrovane 172 epidemije sa 2072 obolele osobe. Među njima prijavljeno je 17 epidemija bolesti virusne etiologije, od kojih su 9 opisane kao najverovatnije alimentarne i 8 sa kontaktim načinom prenošenja infekcije. Međutim, naglašava se da je najverovatnije jedan deo dece sa registrovanom dijare-

jom i gastroenteritisom u Beogradu u posmatranom periodu, imao neku od opisanih infekcija virusne etiologije sa blažom kliničkom slikom, te je izostalo upućivanje na laboratorijsku dijagnostiku, ili su podaci o obavljenim analizama urađeni van laboratorije GZZJZ i ostali neprijavljeni (Pavlović, 2016). Ustanovljeno je da se poslednjih godina, zahvaljujući primeni vakcine protiv *Rotavirusa*, on polako povlači sa vodećeg mesta izazivača dijareja kod dece i ustupa ga *Norovirusima* (Ramani i sar., 2014).

VIRUSI KOJI UZROKUJU GASTROENTERITIS

Norovirus (NoV)

Norovirus (NoV, ranije nazivan „Norwalk-like virus“) spada u porodicu *Caliciviridae* i čini jedan od pet rodova (Jiang i sar., 1990.). Ostali rodovi pripadnici porodice *Caliciviridae* su: *Lagovirus*, *Nebovirus*, *Vesivirus* i *Sapovirus* (Thorn i Goodfellow, 2014.). NoV je mali okrugli virion, sa jednolančanim pozitivno orijentisanim RNK genomom. Karakteristika ove grupe virusa je udubljenje na površini u obliku čašice (calix-a), nazvano „Davidova zvezda“ (Lees, 2000). Prvobitno nazvan Norwalk virus, kasnije preimenovan u „virus male okrugle strukture“, a 2002. prema Međunarodnom komitetu za taksonomiju virusa (ICTVdB, 2004.) nazvan Norovirus (NoV), otkrili su Kapić i sar. (1972.). Genom virusa dugačak je 7,5 do 7,7 kilobaza, a organizovan je u tri glavna, konzervativna Open Reading Frame (ORF) regiona (Atmar, 2010; Thorn i Goodfellow, 2014.). Sekvencira-

njem regije gena za sintezu kapsida i u nekim slučajevima spoja ORF1 i ORF2, identifikovano je nekoliko rekombinantnih sojeva NoV. Genotipizacija bazirana samo na kapsidnoj regiji ne bi bila dosledna zbog rekombinacije NoV, naročito jer je mesto rekombinacije u samoj blizini te regije (Bull i sar., 2007.). U poslednjoj deceniji sojevi koji pripadaju genogrupi NoV GII.4 odgovorni su za većinu velikih epidemija, kao i za sporadične slučajeve gastroenteritisa (van Beek i sar., 2013.).

Iako se norovirusi ne razmnožavaju u hrani, različiti faktori doprinose nastanku bolesti: niska infektivna doza, odsustvo dugotrajnog imuniteta, stabilnost virusa u okolini i mogućnost različitih načina prenošenja (Rizzo i sar., 2007.). Infektivna doza je niska, a fecesom se izlučuje čak $10^8 - 10^{12}$ kopija virusa po gramu (Atmar i sar., 2008.). Replikacija virusa uglavnom se odvija u mukoznom endotelu tankog creva, što rezultira skraćivanjem crevnih resica, a patološke promene se odlikuju hiperplazijom čelijskih kripti. (Caul, 1996.). Genetska predispozicija izloženih potrošača takođe je bitan faktor u razvoju bolesti (Le Guyader i sar., 2009.). Dokazano je da se NoV veže za antigene tkivno-krvnih ćelija (HBGAs) i da preko njih ispoljava svoje dejstvo (Hutson i sar., 2002.). Skorašnja istraživanja ukazuju da infektivna doza virusa i prijemčivost domaćina mogu varirati, zavisno od soja norovirusa (Moe i sar., 2004.).

Od početka simptoma infekcije veliki broj norovirusa se izlučuje fecesom i to izlučivanje može da traje i do dve nedelje nakon infekcije. Životinje inficira-

ne sa agentom Nevburi, goveđim Calici-viruses koji pripada Norovirus genotipskoj grupi III, pokazuju slične simptome, patološke promene i procese kao kod ljudi (Appleton, 2001). Simptomi NoV infekcije uglavnom su blagi, a karakterišu se naglom pojavom povraćanja i vodenastim dijarejama, dok je smrtnost izuzetno retka (Atmar, 2010.). Tok infekcije je brz i traje 24 do 48 sati, sa razvojem simptoma od 12 do maksimalnih 72 sata. Norovirus je glavni uzročnik virusnih enteritisa širom sveta. Precizno određivanje izvora infekcije je otežano jer postoji više puteva prenosa infekcije. Iako je inicijalni put prenosa putem kontaminirane hrane, sekundarni prenos direktnom kontaminacijom hrane od strane zaražene osobe, ili kontaktom između osoba je takođe moguć. Usled toga dolazi do brzog širenja infekcije u institucijama, školama, restoranima, odmaralištima, brodovima, gde morbiditet može da bude i do 50%. Infekcije norovirusom putem hrane nastajale su nakon konzumacije hrane kontaminirane tokom uzgoja (školjke) ili naknadno tokom rukovanja hranom. Epidemije su zabeležene nakon konzumacije školjki (Berg i sar., 2000; Simmons i sar., 2001), peciva (Kuritsky i sar., 1984), delicatesnih proizvoda od mesa (Schwab i sar., 2000), sendviča (Daniels i sar., 2000), malina (Ponka i sar., 1999), vode i leda (Beuret i sar., 2002). Radnici sa asimptomatskim infekcijama, koji su rukovali hranom, takođe su prouzrokovali neke od epidemija norovirusom (Vivancos i sar., 2009.).

Humani Rotavirus (HRV)

Infekcija rotavirusom je naročito ozbiljan problem u zemljama u razvoju, gde dovodi i do 600.000 smrtnih slučajeva godišnje, najčešće među decom. U Sjedinjenim Američkim Državama procenjuje se da rotavirusi izazivaju oko 4 miliona infekcija godišnje dovode, do skoro 70.000 hospitalizacija i više od 100 smrti godišnje (Kapikian i sar., 2001; Sattar i sar., 2001). Po izveštaju Tate i saradnika iz 2016. godine, rotavirus je glavni uzrok akutnog gastroenteritisa kod dece uzrasta do 5 godina i odojčadi i prouzrokuje oko 215 000 smrtnih slučajeva godišnje. Bolest se javlja u svim starosnim dobima, obično je kod odraslih blagog toka, pa pravi obim infekcija kod njih nije poznat. Infekcija nije generalno okarakterisana kao alimentarna, ali u jednom broju zemalja prijavljene su epidemije u vezi sa hranom i vodom. Iako se sojevi virusa kod životinja i ljudi uglavnom razlikuju, neki sojevi su usko povezani, a javljaju se i unakrsne infekcije među vrstama (Sattar i sar., 2001).

Astrovirusi

Malobrojni su epidemiološki dokazi o prenosu astrovirusa putem hrane, ali su prijavljene infekcije nakon konzumiranja kontaminiranih školjki i vode (Oishi i sar., 1994; Kitahashi i sar., 1999; Appleton, 2001). Velika epidemija akutnog gastroenteritisa u Japanu bila je 1991, kada je obolelo hiljade dece i odraslih iz 14 različitih škola (Oishi i sar., 1994). Velike epidemije zabeležene su u Holandiji. 2005. godine (Svraka, 2005), kao i u SAD 2016. god (van der Doef, 2016).

Sapovirusi

Postoji nekoliko izveštaja o infekcijama nakon konzumiranja hrane kontaminirane Sapovirusima. Epidemija virusnog gastroenteritisa je prijavljena u 23 škole u Parkville, Mariland, 1997. Utvrđeno je da je hrana bila izvor, a Sapovirus kasnije je označen kao virus Parkville (Noel i sar., 1997). U skorije vreme zabeležene su dve velike epidemije izazvane sapovirusom, uglavnom u pedijatrijskoj starosnoj grupi, u periodu između 2002. i 2012. godine (Svraka, 2010; Lee, 2012).

Adenovirusi

Entero-adenovirusi su drugi najvažniji uzročnik, nakon rotavirusa, akutnog gastroenteritisa kod dece do 4 godine starosti (Bresee i sar., 2002). Adenovirusi su rasprostranjeni u prirodi i zaražavaju ptice i sisare, uključujući i čoveka. Identifikovani su u različitim uzorcima životne sredine, uključujući otpadne vode, mulj, školjke, morsku vodu, površine i vodu za piće. Prijavljene su epidemije gde je hrana bila put prenosa, ali i gde nije, a takođe su negde izvori ostali neprepoznati (Hidalgo, 2016).

VIRUSI KOJI UZROKUJU HEPATITIS

Virusi hepatitisa su tako nazvani jer inficiraju jetru, a ne po filogenetskim ili morfološkim sličnostima, jer svaki od pet različitih virusa hepatitisa pripada različitim familijama virusa. Od nekoliko različitih virusa koji uzrokuju hepatitis, samo dva–HAV (hepatitis A virus) i HEV (hepatitis E virus) se prenose fekalno-oralnim putem i navedeni su kao „ozbiljni hazard

di” u Prilogu V, U.S. Food and Drug Administration’s Food Code (Cliver, 1997).

Hepatitis A je ozbiljna infekcija koja se prenosi hranom i obavezna je da se prijavljuje u većini razvijenih zemalja. Virus se prvenstveno prenosi fekalno-oralnim putem, ali se takođe može preneti kontaktom sa osobe na osobu. Poslednjih nekoliko godina, učestalost infekcija hepatitisa A u mnogim zemljama je smanjena nakon uvođenja tretmana otpadnih voda i dobre higijenske prakse, ali je ovo dovelo i do opšteg smanjenja imuniteta populacije, sa posledičnim povećanjem podložnosti bolesti. Stoga, postoji povećanje rizik od dobijanja hepatitisa A infekcija od svežih namirnica uvezenih iz regiona sveta gde je HAV endemska bolest i gde su loši standardi opšte higijene. U SAD, hepatitis A je vodeći uzročnik hepatitisa, sa mortalitetom od 0,3%. Međutim, pretpostavlja se da je stvarna incidenca deset puta veća od broja prijavljenih slučajeva. Između 1980. i 2001. godine, CDC je registrovao prosek od oko 25.000 slučajeva godišnje, ali kada su podaci korigovani, prosečan broj je iznosio oko 260.000 godišnje (Fiore, 2004). Hepatitis A infekcija se javlja širom sveta, a posebno u zemljama u razvoju, gde je zaraženo više od 90% dece starosti od 6 godina, pri čemu je infekcija kod njih često asimptomatska (Cromeans i sar., 2001). Kontaminacija Hepatitis A virusom se obično javlja u toku proizvodnje ili rukovanja hranom. Veliki je broj dokumentovanih epidemija nakon konzumacije HAV kontaminiranih školjki, a najveća se dogodila u Kini 1988. godine, kada je oko 300.000 ljudi zaraženo nakon konzumacije delimično skuvanih školjki

(Haliday i sar., 1991). Epidemije su takođe uzrokovalе ostrige u Australiji, kamenice u Brazilu, dagnje u Italiji i školjke u Španiji i kod većine je kanalizacija uglavnom bila izvor zagađenja (Bosch i sar., 2001; Hata i sar., 2014; Rodriguez i sar., 2012, WHO, 2012). Kontaminacija školjki sa HAV je još uvek uobičajena u Italiji, Španiji, i drugim evropskim zemljama (Suffredin i sar. 2017, Bella i sar., 2017). Hepatitis E virus naročito je rasprostranjen u Aziji, severnoj Africi i Latinskoj Americi, uključujući Meksiko. Iako se prvobitno verovalo da se HEV ne javlja u industrijski razvijenim zemljama, u poslednjih nekoliko godina je identifikovan u Evropi, Australiji i Sjedinjenim Američkim Državama (Emerson i Purcell, 2003). Prenos infekcije je generalno preko fekalno zagađene vode, a dokaz za prenos hranom nije definitivno dokumentovan. Epidemije i sporadični slučajevi akutnog hepatitisa izazvanog HEV se javljaju uglavnom u regionima u kojima je ovaj virus endemski. Antitela na HEV su otkrivena u mnogim životinjskim vrstama, što je dovelo do diskusije o njegovom mogućem zoonotskom aspektu. Nedavni izveštaji iz Japana pokazuju da se virus može preneti na ljude bliskim kontaktom sa zaraženim svinjama ili konzumacijom kontaminiranog sirovog ili nedovoljno termički obrađenog svinjskog i jelenskog mesa, kao i jetre divljih svinja (Tei i sar, 2003; Yazaki i sar., 2003). Najubedljiviji dokaz je nedavni izveštaj o porodici u Japanu, koja je nakon konzumacije sirovog jelenskog mesa obolela od hepatitisa (Tei i sar., 2003), a velike epidemije su se javljale i u Kini (Ren i sar., 2017).

ENTEROVIRUSI

Enterovirusi čine grupu virusa koji se umnožavaju u crevima, a do bolesti dovede jedino ako migriraju u druge organe, na primer u respiratorni ili centralni nervni sistem, ali generalno ne uzrokuju gastroenteritis. Uključuju polioviruse, Cocksackie A i B virus i Echoviruse. Prenose se fekalno-oralnim putem. Poliovirusi se prenose hranom, ali usled imunizacije ljudi sada se veoma retko javljaju. Uvođenje pasterizovanog mleka pedesetih godina prošlog veka, smanjilo je prenos ovom namirnicom. I pored prisustva enterovirusa u životnoj sredini, prijavljen je vrlo mali broj epidemija povezanih sa hranom. Enterovirusi, uključujući ehoviruse i koksaki A i B virus, izolovani su iz kanalizacije, mulja, morske i sveže vode, kao i iz školjki. U dve zabeležene epidemije putem hrane povezane sa Cocksacki i ehovirusima u Sjedinjenim Američkim Državama, izvor virusa nije identifikovan. Drugi virusi koji se mogu potencijalno preneti fekalno-oralnim putem i naći u fecesu ljudi i životinja uključuju Parvoviruse, koronavirus, toroviruse, picobirnaviruses, i tik-borne virus encefalitisa (TBE). Sposobnost mnogih od ovih virusa da izazove gastroenteritis kod ljudi i životinja je još uvek nedokazana, a takođe postoji malo dokaza da mogu putem hrane dovesti do oboljenja (Bresee i sar.2002, Greening, 2016).

KORELACIJA IZMEĐU BAKTERIJA–INDIKATORA I VIRUSA U HRANI I VODI

Kako se crevni virusi obično prenose fekalno-oralnim putem, komponente fe-

cesa su korišćene za detekciju prisustva fekalnog zagađenja u hrani i vodi. Razvijeni su takođe i testovi za hemijske i mikrobiološke indikatore. Kao hemijski indikator koristio se koprostanol, ali su testiranja zahtevala specijalizovanu opremu i imala ograničenu osetljivost (Isobe i sar., 2004). Generalno osetljiviji od hemijskih su mikrobiološki testovi jer mogu otkriti jedan ili nekoliko vrsta mikroorganizama, te se stoga u većini ispitivanja bakterije koriste kao indikatori virusa. Bakterije namenjene za tu upotrebu treba da poseduju određene karakteristike, od kojih su najvažnije (Kinzelman i sar., 2011) :

- u datom okruženju prisustvo bakterija treba da je bude u korelaciji sa prisustvom crevnih virusa;
- kada je bakterija indikator odsutna ili je prisutna u malim koncentracijama, virusi ne treba da se detektuju i obratno–kada je broj indikatora visok, virusi treba da se učestalije detektuju i
- bakterije indikatori ne bi trebalo da budu patogene, što pojednostavljuje procedure za njihovu identifikaciju i smanjuje rizik slučajnog zaražavanja laboratorijskih radnika.

Indikator bakterija treba da preživi u datom okruženju približno onoliko dugo koliko i virus, jer ako se brže inaktiviraju od virusa, ne bi se otkrile, iako su virusi i dalje prisutni. Da bi bile korisne kao indikatori, opstanak bakterija u okruženju takođe ne treba da se razlikuje u velikoj meri od opstanka virusa (Sagar, 2006).

Na osnovu brojnih studija ukazano je da nivo bakterija indikatora može da

predvidi prisustvo humanih crevnih virusa u nekim, ali ne i u svim slučajevima (Schaper i sar., 2004., Oh i sar., 2015). Virusi se češće mogu naći u uzorcima životne sredine i u školjkama koje su visoko kontaminirani indikator bakterijama, međutim takođe se mogu izolovati i u uzorcima gde je nizak nivo bakterija indikatora i koje ispunjavaju zadate standarde. Stoga mnogi naučnici preporučuju korišćenje bakteriofaga kao virusnih indikatora. Bakteriofagi su virusi koji inficiraju i razmnožavaju se u bakterijama, a slični su virusima koji dovode do oboljenja ljudi. Uslovi koje bakteriofag treba da ispunjava su: da bude specifičan, da se isključivo javlja u ljudskom fecesu i kanalizaciji; da se ne razmnožava u okruženju; da se javlja u većem broju nego virusi; da bude dugovečan; da se detektuje jeftinim i jednostavnim metodama. Različiti genotipovi F+ bakteriofaga su predloženi kao indikatori fekalnog zagađenja, ljudskog ili životinjskog (Hodgson i sar., 2017).

DETEKCIJA I IZOLACIJA NOROVIRUSA IZ HRANE

Iako virusi u mnogim zemljama predstavljaju važan uzročnik bolesti prenosivih hranom, retko se dijagnostikuju, jer analitičke metode nisu još uvek široko dostupne. Hrana je vrlo složeni matriks, pa je potrebno razviti visoko osetljive metode, koje će omogućiti obnavljanje virusnih čestica i uklanjanje inhibitornih supstanci koje mogu da ometaju njegovu izolaciju (Bosch i sar., 1994; Sánchez i sar., 2002, Le Guyader i sar., 2006). Pored problema sa inhibitornim supstancama, detekcija virusa je otežana jer se u hrani

nalaze u niskim koncentracijama i često dolazi do varijacija sekvenci, odnosno do stvaranja novih sojeva. Metcalf i saradnici su 1979. dokazali da se virusi u školjkama koncentrišu u tkivu digestivne žlezde, što je bilo od velikog značaja za napredak metode ekstrakcije. Ovo je kasnije potvrđeno detekcijom HAV, adenovirusa i rotavirusa u eksperimentalno kontaminiranim ostrigama (Maalouf i sar., 2011).

Potencijal za brzu dijagnozu, veliki kapacitet, kao i osetljivost i kvantitativna priroda testa PCR u realnom vremenu, čine ga veoma pogodnim za zamenu izolacije virusa kako za nadzor, tako i za dijagnostiku i istraživanje (Koo i sar., 2010., Milić i sar., 2017). Za viruse koji ne mogu da se uzgajaju na kulturama ćelija, kao što su norovirus i HAV, danas su dostupni Real Time PCR testovi uz prethodnu reverznu transkripciju (RT), koji omogućavaju mnogo bržu procenu kliničkih uzoraka i glavna su tehnika detekcije NoV iz hrane, vode i drugih uzoraka (Lopman i sar., 2012). Ova metoda izvodi se po standardnom protokolu, korišćenjem seta hemikalija po uputstvima proizvođača (QIAamp ili RNeasy kit, QiagenR). RealTime PCR je modifikovni PCR koji omogućuje praćenje amplifikacije (akumulacije amplifikata) u „realnom vremenu“, tj. u/kroz svaki ciklus. Princip funkcionisanja Real Time RT-PCR je da se tokom reakcije meri količina akumuliranog PCR proizvoda i to tako što se u klasičnu reakcionu smešu dodaje fluorescentna boja koja se, po okončanju svakog ciklusa, interkalarno veže za novosintetisani DNK fragment. Kompjuterski kontrolisana CCD kamera potom snima in-

tenzitet svetlosti koju UV–pobuđena boja emituje iz reakcione smeše. Real Time PCR sistem upoređuje intenzitet fluorescencije u odnosu na svaki ciklus i prikazuje kinetiku procesa u obliku amplifikacione krive. U prvim ciklusima reakcije ne postoje merljive varijacije intenziteta fluorescencije, ali u tom periodu se definiše prvi značajni parametar–bazna linija amplifikacione krive. Povećanje fluorescencije iznad bazne linije predstavlja početak faze akumulacije DNK proizvoda. Drugi značajan parametar je linija praga. Ova linija je paralelna baznoj liniji, a preseca amplifikacionu krivu u fazi eksponencijalnog rasta intenziteta fluorescencije. Amplifikaciona kriva svakog ispitujućeg uzorka preseca liniju praga u određenom ciklusu reakcije. Taj ciklus naziva se ciklus praga (threshold cycle) i označava kao Ct. Linija praga tako predstavlja početnu količinu ispitujuće DNK. Postoje različite vrste Real Time PCR testova, ali se danas najčešće koristi TaqMan fluorescentna proba. Ova metoda zasniva se na detekciji fluorescentnog signala, koji se proizvodi proporcionalno sa amplifikacijom PCR proizvoda. Specifičnost testova može se utvrditi pomoću hibridizacionih proba ili sekvencioniranjem odnosno utvrđivanjem redosleda amplifikona, koje dalje mogu poslužiti za epidemiološke molekularne studije (Atmar, 2010).

PREVENTIVNE MERE

Alimentarni virusi su generalno otporni na faktore spoljašnje sredine, pa i na temperaturu i kiselost. Stabilni su u prisustvu lipidnih rastvarača, većina odoleva i zamrzavanju i sušenju. Još uvek nije

utvrđeno da li proces pasterizacije pri 60°C tokom 30 min inaktiviše sve crevne viruse. Mnogi su takođe otporni na dejstvo ultra–visokog hidrostatskog pritiska, koji se koristi u procesima prečišćavanja školjki, džemova, želea i mlečnih proizvoda (Wilkinson i sar., 2001; Kingsley i sar., 2002). Otpornost crevnih virusa na ekološke stresore im omogućava da se odupru, kako kiseloj sredini u crevima sisara, tako i proteolitičkoj i alkalnoj aktivnosti duodenuma, tako da su u stanju da prođu ove barijere i kolonizuju donji digestivni trakt. Ove osobine im takođe omogućavaju opstanak u kiselim, mariniranim proizvodima i turšiji, zamrznutoj i lagano kuvanoj hrani, kao što su školjke. Kod većine enteričnih virusa infektivna doza je niska (10–100 čestica i manje), pa iako se ne umnožavaju u hrani, dovoljno infektivni virioni mogu opstati u njoj i nakon konzumacije i izazvati oboljenje. U školjkama, i u svežoj i morskoj vodi zadržavaju infektivnost i po nekoliko nedelja pri temperaturi od oko 4°C (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2002). Richards (2012) je vršio eksperiment u kome, tokom 14 ciklusa zamrzavanja pri temperaturi od -80°C, a zatim zagrevanja pri +22°C GII.4 genotipa norovirusa, nije uočio promene integriteta virusnog kapsida i promene stabilnosti titra viralne RNK, što dokazuje njegovu stabilnost u okolini. Fotodinamska inaktivacija je korišćenje prirodnih fotosenzibilizatora (PS) i predstavlja obećavajuću strategiju za kontrolu različitih patogena uključujući bakterije, gljivice, kvasce, protozoe i viruse (Luksiene i Brovko, 2013).

Ustanovljeno je da prisustvo i opstanak virusa zavisi od temperature i obrnuto je srazmerno njenom povećanju (Suffredini i sar., 2012; Bazzardi i sar., 2014). Niske temperature (hlađenje i zamrzavanje) nisu potpuno pouzdani načini smanjenja kontaminacije virusa u namirnicama. Visoka temperatura može biti efikasna u nekim slučajevima, ali treba razmotriti kombinaciju vremena i temperature za pojedine viruse, kao i vrstu hrane. Takođe, treba imati u vidu i RTE hranu, gde ne postoji naknadna termička obrada. Efikasnost drugih načina kontrole je takođe donekle ograničena i generalno, oni mogu smanjiti, ali ne i eliminisati viruse u hrani (Sagar, 2006). Među njima, oni koji se primenjuju na sirovim školjkama su prečišćavanje, prenos u čistu morsku vodu i jonizujuće zračenje. Za primenu visokog hidrostatskog pritiska potrebno je više podataka da bi se dokazala efikasnost u deaktivaciji virusa (Ye i sar., 2015). Isto tako, pranje proizvoda svežom, čistom vodom, sa ili bez dodatka hemijskih dezinfekcionih sredstava, može takođe da smanji kontaminaciju virusa, ali je važno napomenuti da efikasnost takve dekontaminacije varira zavisno od i virusa i od namirnice (Koo i sar., 2010).

ZAKLJUČCI

Virusi koji se prenose hranom postaju sve veći javno-zdravstveni problem širom sveta. Koliko je stvarno opterećenje hrane virusima, još uvek nije poznato jer ne postoje tačni podaci o njihovoj prevalenciji u svim zemljama. Sistemi za epidemiološki nadzor ne mogu da zabeleže svaku pojavu virusa, jer se oni najčešće i nepri-

javljaju. I pored toga, podaci koji sada postoje ukazuju na to da su virusi vodeći patogeni koji se prenose hranom.

Uvođenje molekularnih metoda za detekciju i identifikaciju virusa koji se prenose hranom, značajno je doprinelo njihovoj kontroli, naročito onih virusa koji se ne mogu kultivisati na kulturama ćelija, kao što su norovirus i hepatitis A virus. Ove metode imaju i svojih ograničenja, s obzirom na to da se njihovom primenom ne može odrediti infektivna doza virusa, što je ključni faktor pri proceni rizika za zdravlje ljudi.

Ključni faktori koji utiču na rizik od kontaminacije svežih proizvoda su kvalitete vode i higijene radnika u proizvodnji i u distribuciji hrane. Glavni uzroci kontaminacije su loša higijenska praksa u proizvodnim pogonima i kontaminacija kanalizacionim vodama koje imaju glavnu ulogu u procesu kontaminacije. Prvi korak u kontroli kontaminacije virusima je sprečavanje direktnog kontakta fekalnog materijala (u nekim slučajevima i izbljuvka) sa hranom. Takođe, prevencija izlivanja otpadnih voda u uzgajališta je od presudnog značaja u kontroli virusne kontaminacije školjki. Međutim, nedostatak korelacije između indeksa fekalnih koliforma i prisustva crevnih virusa može otežati prepoznavanje zagađenja, kada do njega dođe. U proizvodnim pogonima je neophodno poštovanje zahteva dobre higijenske i dobre proizvođačke pakse, s posebnim osvrtnom na ličnu higijenu radnika. Isto tako, pravilno održavanje lične higijene, uključujući upotrebu zaštitnih barijera i dekontaminaciju ruku i radnih po-

vršina, predstavlja prvu liniju odbrane za sprečavanje virusne kontaminacije RTE hrane. Odgovarajuće kontinuirane edukacije radnika koji rukuju hranom su takođe jedan od uslova primene preventivnih mera.

Potrebna su dalja istraživanja da bi se ustanovio efektivni način dekontaminacije i strategije kontrole, kao i da se radi na poboljšanju monitoringa i metoda detekcije, razmotri mogućnost vakcinacije, te da se razviju uspešni edukativni programi.

LITERATURA

1. Appleton H. (2001): *Norwalk virus and the small round viruses causing foodborne gastroenteritis*, Foodborne Disease Handbook: Viruses, Parasites, Pathogens and HACCP 2: 77–97.
2. Atmar R. L. (2010): *Noroviruses – State of the Art*. Food Environ Virol. 2, 117–126.
3. Atmar R.L., Opekun A. R., Gilger M. A., Estes M. K., Crawford S. E., Neill F. H., Graham D. Y (2008): *Norwalk Virus Shedding after Experimental Human Infection*. Emerg. Infect. Dis: 14, 1553–1557.
4. Bazzardi R., Fattaccio M.C., Salza S., Canu A., Marongiu E., Pisanu M (2014): *Preliminary study on Norovirus, hepatitis A virus, Escherichia coli and their potential seasonality in shellfish from different growing and harvesting areas in Sardinia region*. Italian Journal of Food Safety 3: 1601.
5. Berg D. E., Kohn M. A., Farley T. A., McFarland, L. M (2000): *Multi-state out-breaks of acute gastroenteritis traced to fecal-contaminated oysters harvested in Louisiana*. J. Infect. Dis. 181: 381–386.
6. Beuret C., Kohler D., Baumgartner A., Luthi T. M (2002): *Norwalk-like virus sequences in mineral waters: one-year monitoring of three brands*. Appl. Environ. Microbiol. 68:1925–1931.
7. Bosch A., Sanchez G., Le Guyader F., Vanaclocha H., Haugarreau L., Pinto R. M (2001): *Human enteric viruses in Coquina clams associated with a large hepatitis A outbreak*. Water Sci. Technol. 43:61–65.
8. Bull R. A., Hansman G. S., Clancy L. E., Tanaka M. M., Rawlinson W. D., White P. A (2005): *Norovirus recombination in ORF1/ ORF2 overlap*. Emerg. Infect. Dis. 11: 1079–1085.
9. Bresee J. S., Widdowson M. A., Monroe S. S., Glass R. I (2002): *Foodborne viral gastroenteritis: challenges and oportunities*. Clin. Infect. Dis 35: 748–753.
10. Caul O.W (1996): *Viral gastroenteritis; small round structured viruses, caliciviruses and astroviruses. Part I. The clinical and diagnostic perspective*. J. Clin. Pathol. 49:874–880.
11. Cliver D. O (1997): *Virus transmission via food*, World Health Stats. 50:90–101.
12. Croci L., De Medici D., Scalfaro C., Fiore A., Divizia M., Donia D., Cosentino A. M., Moretti P., Costantini

- G (200): *Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and Escherichia coli in Adriatic Sea mussels*. J. Appl. Microbiol. 88:293–298
13. Daniels N. A., Bergmire-Sweet D. A., Schwab K. J., Hendricks K. A., Reddy S., Rowe S. M., Fankhauser R. L., Monroe S. S., Atmar R. L., Glass R. I., Mead P (2000): *A foodborne outbreak of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses: first molecular traceback to deli sandwiches contaminated during preparation*. J. Infect. Dis. 181:1467–1470.
 14. ICTVdB. (2004): *Norovirus*. In ICTVdB- The universal Virus Database, ed. C. BuchenOsmond. New York; ICTVdB Management, Columbia University.
 15. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal, 2015, 13(12), 19
 16. Emerson S, Purcell R. (2003): *Hepatitis E virus*. Rev. Med.Virol 13:145–154.
 17. Fankhauser R. L., Monroe S. S., Noel J. S., Humphrey C. D., Bresee J. S., Parashar U. D., Ando T., Glass R (2002): *Epidemiologic and molecular trends of “Norwalk-like viruses” associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States*. J. Infect. Dis.186:1–7.
 18. Fiore A (2004): *Hepatitis A transmitted by food*.Clin. Infect. Dis. 38:705–715.
 19. Greening G., Cannon J (2016): *Human and Animal Viruses in Food (Including Taxonomy of Enteric Viruses)*, Part of the Food Microbiology and Food Safety book series (FMFS).
 20. Hata A., Katayama H., Kojima K., Sano S., Kasuga I., Kitajima M., Furumai H (2014): *Effects of rainfall events on the occurrence and detection efficiency of viruses in river water impacted by combined sewer overflows*. Sci Total Environ 468–469, 757–763.
 21. Halliday L. M, Kang L. Y, Zhou T. K, Hu M. D, Pan Q. C, Fu T. Y, Huang Y. S, Hu S. (1991): *An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China*. J. Infect. Dis. 164:852–859.
 22. Hidalgo P, Anzures L, Hernández-Mendoza A (2016): *Morphological, biochemical, and functional study of viral replication compartments isolated from adenovirus-infected cells*. J Virol 90(7):3411–3427.
 23. Hodgson K., Torok V., Turnbull A (2017): *Bacteriophages as enteric viral indicators in bivalve mollusc management*. Food Microbiology 65: 284–293
 24. Hutson A. M., Atmar R. L., Graham D. Y., Estes M. K. (2002): *Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type*. J. Infect. Dis. 185: 1335–1337.
 25. Isobe K, Tarao M., Chiem N., Minh L., Takada H. (2004). *Effect of en-*

- vironmental factors on the relationship between concentrations of coprostanol and faecal indicator bacteria in tropical (Mekong Delta) and temperate (Tokyo) freshwaters. Appl. Environ. Microbiol.* 70(2), 814–821.
26. Jiang X., Graham D. Y., Wang K. N., Estes M. K (1990): *Norwalk virus genome cloning and characterization.* Science 250: 1580–1583.
27. Kapikian A. Z., Hoshino, Y., Chanock R. M (2001): *Rotaviruses, in: Fields Virology, 4th ed., vol. 2 (D. M. Knipe and P. M. Howley, eds.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1787–1833.*
28. Kapikian A. Z., R. G. Wyatt R. Dolin, T. S. Tornhill A. R. Kalica R. M. Chanock (1972): *Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis.* J. Virol. 10: 1075–1081
29. Kingsley D. H., Hoover D. G., Papfragkou E., Richards G. P (2002): *Inactivation of hepatitis A virus and a calicivirus by high hydrostatic pressure.* J. Food Prot. 65:1605–1609.
30. Kinzelman, J. (2011). *Comparative evaluation of molecular and culture methods for faecal*
31. *indicator bacteria.* Presented at Faecal Indicators: Problem or Solution (FIPS) Conference, Edinburgh, Scotland, 7 June 2011
32. Kitahashi T., Tanaka T., Utagawa E (1999): *Detection of HAV, SRSV and astrovirus genomes from native oysters in Chiba City, Japan.* Kanshogaku Zasshi 73:559–564.
33. Koopmans M., E. Duizer (2004): *Foodborne viruses: an emerging problem.* J. Food Microbiol. 90:23–41.
34. Koo H.L., Ajami N., Atmar R.L., and DuPont, H.L (2010): *Noroviruses: The Principal Cause of Foodborne Disease Worldwide.* Discov. Med. 10(50), 61–70.
35. Kuritsky J. N., Osterholm M. T., Greenberg H. B., Korlath J. A., Godes J. R., Hedberg C. W., Forfang J. C., Kapikian A. Z., McCullough J. C., White K.G.E. Greening E. (1984): *Norwalk gastroenteritis: a community outbreak associated with bakery product consumption.* Ann. Intern. Med. 100:519–521
36. La Bella G., Martella V. M., Basanisi G., Nobili V. Terio G., La Salandra (2017): *Food-Borne Viruses in Shellfish: Investigation on Norovirus and HAV Presence in Apulia (SE Italy),* Food and Environmental Virology 9, 2 :179–186.
37. Le Guyader F. S., Bon F., DeMedici D., Parnaudeau S., Bertome A. (2006): *Detection of noroviruses in an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption,* J Clin Microbiol. 44:3878–3882.
38. Le Guyader F. S., Pommeypuy M., Atmar R. L. (2009): *Monitoring viral contamination in shellfish-growing areas. In: Burnell, G.; Allan, G., editors. New technologies in aquaculture.* New York: CRC Press. 542–579.

39. Lee L.E., Cebelinski E.A., Fuller C., Keene W.E., Smith K., Vinje J (2012): *Sapovirus outbreaks in long-term care facilities, Oregon and Minnesota, USA, 2002–2009*. Emerg Infect Dis. 18: 873–876.
40. Lees D. N (2000): *Viruses and bivalve shellfish*. Int. J. Food Microbiol. 59:81–116
41. Lopman B., P. Gastan G.Woo Park A. J. Hall U.D. Parashar J. Vinje (2012): *Environmental transmission of norovirus gastroenteritis*. Curr. Opin. Virol. 2:96–102.
42. Luksiene Z., & Brovko L (2013): *Antibacterial photosensitization-based treatment for food safety*. Food Engineering Reviews, 5:185–199.
43. Mariam T. W., Cliver D.O (2000): *Hepatitis A virus control in strawberry products*. Dairy Food Environ. Sanit. 20:612–616.
44. Maalouf H., J. Schaeffer S. Parnaud J., Le Pendu R. L., Atmar S. E., Crawford F. S., Le Guyader (2011): *Strain-Dependent Norovirus Bioaccumulation in Oysters*. Appl. Environ. Microbiol. 77:3189–3196.
45. Metcalf T. G., B. Mullin D., Eckerson E. Moulton E. P. Larkin (1979): *Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam, Mya arenaria*. Appl. Environ. Microbiol. 38:275–282.
46. Milic N., Radalj A., Nisavic J. (2017): *Standard and molecular methods in the diagnostics of infections caused by equine herpesviruses 1 and 4*, Veterinarski Glasnik, OnLine-First Issue 00 : 2-2
47. Moe C., Teunis P., Lindesmith L., McNeal E.-J. C., LePendou J., Treanor J., Herrmann J., Blacklow N. R., Baric R. S. (2004): *Norovirus dose response*. Second International Calicivirus Conference, Dijon, France.
48. Noel J. S., Liu B. J., Humphrey C. D., Rodriguez E. M., Lambden P. R., Clarke I. N., Dwyer D. M., Ando T., Glass R. I., Monroe S. S. (1997): *Parkville virus: a novel genetic variant of human calicivirus in the Sapovirus virus clade, associated with an outbreak of gastroenteritis in adults*. J. Med. Virol. 52:173–178.
49. Oh E.G., Ki Cheol Song, Sukyung Kim, Kunbawui Park, Hongsik Yu (2015): *Negative Correlation between the Prevalence of Norovirus and High Bacterial Loads of Escherichia coli in Oysters Crassostrea gigas*. Fish Aquat Sci 18(3), 235–240
50. Oishi I., Yamazaki K., Kimoto T., Minekawa Y., Utagawa E., Yamazaki S., Inouye S., Grohmann G. S., Monroe S. S., Stine S. E., Carcamo C., Ando T., Glass R. I. (1994): *A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan*. J. Infect. Dis. 170:439–443.
51. Pavlović N., Relić T. (2016): *Epidemiološki značaj virusnih bolesti koje se prenose hranom*, Zbornih radova 5. simpozijuma “Bezbednost i kvalitet namirnica animalnog porekla”, Beograd, 3–5.11.2016.
52. Ponka A., Maunula L., von Bonsdorff C., Lytikainen O. (1999): *An outbreak of calicivirus asso-*

- ciated with consumption of frozen raspberries.* Epidemiol. Infect. 123:469–474.
53. Ramani P.G., Abraham G., Mathew M., Lesley N. (2014): *Nutritional Assessment of Renal Transplant Recipients Using DEXA and Bioc-hemical.* Nutritional Disorders & Therapy 4:1.
54. Ren X., Wu P., Wang L., Geng M. (2017): *Changing Epidemiology of Hepatitis A and Hepatitis E Viruses in China, 1990–2014,* Emerg Infect Dis.23(2):276–279.
55. Ricci A., Allende A., Bolton D., Chemaly M. (2017): *Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen,* EFSA Journal, Vol 15, Issue 7. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4886
56. Rizzo C., Di Bartolo I., Santantonio M., Coscia M. F., Monno R., De Vito D., Ruggeri F. M., Rizzo G. (2007): *Epidemiological and virological investigation of a Norovirus outbreak in a resort in Puglia, Italy.* BMC Infect. Dis. 7:1471–2334.
57. Richards G. P., Watson M. A., Meade G. K., Hovan G. L., Kingsley D. H. (2012): *Resilience of Norovirus GII.4 to freezing and thawing; Implication for virus infectivity.* Food Environ. Virol. 4:192–197.
58. Rodriguez R.A., Gundy P.M., Rijal G.K., Gerba C.P. (2012): *The impact of combined sewage overflows on the viral contamination of receiving waters.* Food Environ Virol 4:34–40.
59. Sagar M. Goyal (2006): *Viruses in food,* Food microbiology and food safety.
60. Sánchez G., Pintó R. M., Vanaclocha H., Bosch A. (2002): *Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak,* J Clin Microbiol, 40: 4148–4155.
61. Sattar S. A., Springthorpe V. S., Tetro, J. A. (2001): Rotavirus, in: Food-borne Disease Handbook, Viruses, Parasites, Pathogens, and HAC-CP, 2nd ed., vol. 2 (Y. H. Hui, S. A. Sattar, K. D. Murrell, W.-K. Nip, and P. S. Stanfield, eds.), Marcel Dekker, New York, 2001, 99–126.
62. Schaper M., Duran A., Jofre J. (2004): *Comparative resistance of phage isolates of four genotypes of F-specific RNA bacteriophages to various inactivation processes.* Applied and Environmental Microbiology, 68: 3702–3707.
63. Schwab K. J., Neill F. H., Fankhauser R. L., Daniels N. A., Monroe S. S., Bergmire-Sweat D A., Estes M. K., Atmar R. L. (2000): *Development of methods to detect “Norwalk-Like Viruses” (NLVs) and Hepatitis A virus in delicatessen foods: application to a food-Borne NLV outbreak,* Appl Environ Microbiol 66:213–218.
64. Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health, (2002), Scientific opinion on Norwalk-like viruses, European Commission—Health and Consumer Protection Directorate—General.

65. Smits L.S., Koopmans P. G. (2017): Genomics and Foodborne Viral Infections, Part of the Food Microbiology and Food Safety book series (FMFS) – Springer.
66. Suffredini E., Magnabosco C., Civettini M., Rossetti E., Arcangeli G., Croci L. (2012): *Norovirus contamination in different shellfish species harvested in the same production areas*. Journal of Applied Microbiology 113(3):686–692.
67. Suffredini E., Proroga Y.T., Pasquale S., Di Maro O., Losardo M., Cozzi L., Capuano F., De Medici D (2017): *Occurrence and trend of hepatitis a virus in bivalve molluscs production areas following a contamination event*. Food and Environmental Virology
68. Svraka S., Vennema H., van der Veer B., Hedlund K.O., Thorhagen M., Siebenga J (2010): *Epidemiology and genotype analysis of emerging sapovirus-associated infections across Europe*. J Clin Microbiol. 48: 2191–2198.
69. Tate J.E., Burton A.H., Boschi-Pinto C. (2016): *Global, regional, and national estimates of rotavirus mortality in children*. Clinical Infectious Disease 62: S96–S105.
70. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mi-shiro S. (2003): *Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings*. Lancet 362:371–373.
71. Thorne L. G, I. G. Goodfellow (2014): *Norovirus gene expression and replication*. J. Gen. Virol. 95:278–291.
72. Van Beek J., K. Ambert-Balay N. Botteldoorn J. S. Eden J. Fonager J. Hewitt N. Iritani A. Kroneman H. Vennema J. Vinjé P. A. White M. Koopmans (2013): *Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012*. Eurosurveillance 18: 1–2.
73. Van der Doef, H.P.J.; Bathoorn, E.; van der Linden, M.P.M.; Wolfs, T.F.W.; Minderhoud, A.L.C.; Bie-rings, M.B.; Wensing, A.M.J.; Lindemans, C.A. (2016): *Astrovirus outbreak at a pediatric hematology and hematopoietic stem cell transplant unit despite strict hygiene rules*. Bone Marrow. Transpl. 2016, 51, 747–750.
74. Vivancos R., Shroufi A., Sillis M., Aird H., Gallimore C.I., Myers L., Mahgoub H., Nair P. (2009): *Food-related norovirus outbreak among people attending two barbecues: epidemiological, virological, and environmental investigation*. Int J Infect Dis. 13(5):629–35.
75. WHO, 2012. WHO position paper on hepatitis A vaccines - June 2012. Wkly Epidemiol Rec 569 87, 261–276.
76. WHO, 2015. WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007–2015
77. Wilkinson N, Kurdziel A. S, Langton S, Needs E, Cook N. (2001):

*Resistance of poliovirus to inactivation by hydrostatic pressure.*Innov. Food Sci. Emerg.Technol.2:95–98.

78. Yazaki Y, Mizuo H., Takahashi M., Nishizawa K., Sasaki N., Gotanda Y., (2003): Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, maybe foodborne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food.J. Gen. Virol. 84:2351–2357

79. Ye M., Lingham T., Huang Y., Ozbay G., Ji L., Karwe M., Chen H. (2015): Effects of High-Hydrostatic Pressure on Inactivation of Human Norovirus and Physical and Sensory Characteristics of Oysters. Journal of Food Science 80, (6), 1330–1335

Rad primljen: 18.06.2017.

Rad одобрен: 04.09.2017.



DOI: 10.7251/VETJ1701056N

UKD: 599.735.31:599.735.52-147.137

Ivana Nešić¹, Zdenka Blagojević¹, Ivana Božičković², Drago Nedić¹,
Spomenka Đurić¹, Milena Đorđević¹, Aleksandra Nikolić³

Originalni naučni rad

UPOREDNE KARAKTERISTIKE POTKOLENIH KOSTIJU (*OSSA CRURIS*) SRNE (*CAPREOLUS CAPREOLUS*) I OVCE (*OVIS ARIES*) U CILJU UTVRĐIVANJA PRIPADNOSTI ŽIVOTINJSKOJ VRSTI

Kratak sadržaj

Česti su slučajevi krivolova u kojima je potrebno na osnovu morfoloških karakteristika kostiju utvrditi kojoj životinjskoj vrsti pripadaju. Metodom komparacije obavljen je forenzička analiza osteoloških karakteristika kostiju srne i ovce.

Za ispitivanje uporednih karakteristika potkolenih kostiju (*Ossa cruris*) upotrebljeno je 6 potkolenih kostiju od srne i 8 od ovce. Kada je sa kostiju skinuta koža, mišići, arterijski, venski i limfni sudovi, nervi, one se termički obrađuju u autoklavu. Posle kuvanja, kosti su stavljene u 3% rastvor vodonik peroksida (H_2O_2) radi beljenja i odmašćivanja. Sušene su prirodnim putem na vazduhu, a zatim su fotografisane.

Golenjača (*Tibia*) kod srne je duža u odnosu na ovcu. Lisnjača (*Fibula*) kod mladih srna je slabo razvijena, kod starijih predstavlja tanku izduženu košćicu, dok je kod ovce zakržljala.

Na proksimalnom delu golenjače obe zglobove kvrge (*Condylus lateralis et condylus medialis*) kod ovce su veće, masivnije i bolje razvijene nego kod srne. Incisura poplitea kod srne je široka i plitka, a kod ovce široka i duboka. Kod ovce, Eminentia intercondylaris je više uzdignuta i strma, a Tuberculum intercondylare laterale et mediale su bolje razvijeni i masivniji. Margo cranialis kod ovce je duži. Tuberositas tibiae kod srne je duži i uži, dok je kod ovce kraći i širi. Sulcus extensorius kod srne je širi i plići, a kod ovce je už i dublji.

Morfološke razlike u distalnom delu golenjače (*Cochlea tibiae*) kod srne i ovce skoro i ne postoje.

Ključne reči: *potkolene kosti, srna, ovca*

¹ Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Republika Srbija. (Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade)

² Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Nemanjina 6, Zemun–Beograd, Republika Srbija (Faculty of Agriculture, Zemun–Belgrade, Serbia);

³ Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, Beograd, Republika Srbija (Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia) Korespondentni autor: Ivana Nešić, e-mail: inesic@vet.bg.ac.rs, tel. 011/3615-436/lok 360, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Republika Srbija

DOI: 10.7251/VETJ1701056N

UDK: 599.735.31:599.735.52-147.137

Ivana Nešić¹, Zdenka Blagojević¹, Ivana Božičković², Drago Nedić¹,
Spomenka Đurić¹, Milena Đorđević¹, Aleksandra Nikolić³

Original scientific paper

COMPARISON OF ROE DEER (*CAPREOLUS CAPREOLUS*) AND SHEEP (*OVIS ARIES*) TIBIA (*TIBIA*) CHARACTERISTICS AS A METHOD OF DETERMINATION ANIMAL SPECIES

Abstract

Illegal hunting cases, when it is needed to determine animal species on the basis of only morphological characteristics of animals are very frequent. Forensic analysis of roe deer and sheep osteological features was performed by the method of comparison.

For the purpose of investigating comparative characteristics of leg skeleton (*Skeleton cruris*), bones of 6 roe deer and bones of 6 sheep were used.

After the skin, muscles, arterial, venous and lymphatic vessels as well as nerves were removed from the bones, they were boiled. Subsequently, bones were placed in 3% solution of hydrogen peroxide (H₂O₂) for bleaching and degreasing. At the end, they were air dried and finally, photographed.

The tibia (*Tibia*) of roe deer is longer compared to the same bone in sheep. The fibula (*Fibula*) in young roe deer is less developed, but in adult animals it is a thin and elongated bone, while in sheep it is completely reduced.

At the proximal end of tibia both condyles (*Condylus lateralis et Condylus medialis*) in sheep are larger, more massive and better developed than in roe deer.

The popliteal notch (*Incisura poplitea*) in roe deer is wide and shallow, and in sheep wide and deep.

The intercondylar eminence (*Eminentia intercondylaris*) in sheep is elevated and steep, but lateral and medial intercondylar tubercles (*Tuberculum intercondylare laterale et mediale*) are more developed and more massive in comparison to roe deer. The cranial border of the tibia (*Margo cranialis*) in sheep is longer than in roe deer.

1 Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade

2 Faculty of Agriculture, Zemun-Belgrade, Serbia;

3 Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia

Corresponding author: Ivana Nešić, e-mail: inesic@vet.bg.ac.rs, tel. 011/3615-436/lok 360, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, Beograd, Republika Srbija

The tibial tuberosity (*Tuberositas tibiae*) of roe deer tibia is longer and narrower, while in sheep it is shorter and wider. The extensor groove (*Sulcus extensorius*) in roe deer is wider and shallower, and in sheep is narrower and deeper.

Morphological differences in the distal end of the tibia (*Cochlea tibiae*) in roe deer and sheep almost don't exist.

Key words: *tibia, fibula, roe deer, sheep*

UVOD / INTRODUCTION

Za vreme zabrane lova česti su slučajevi krivolova, kada treba dokazati da li se radi o mesu srne ili ovce. Za identifikaciju kada nema drugog materijala (sveže meso, krv, dlaka) mogu se koristiti i kosti na kojima se nalaze izrazite morfološke karakteristike. Određivanje vrste životinja na osnovu morfoloških razlika kostiju predstavlja jednu od najsigurnijih metoda, posebno kada nedostaje materijal za sprovođenje drugih laboratorijskih metoda u cilju identifikacije životinjskih vrsta.

U relevantnoj literaturi našli smo radove drugih autora koji se odnose na upoređivanje razlike pojedinih kostiju između divljih i domaćih životinja, srne i ovce. Na osnovu morfoloških razlika koje postoje, dokazan je njihov značaj i važnost u identifikaciji kostiju.

Blagojević i Aleksić su 2012. godine opisali da su podlakatne kosti (*Ossa antebrachii*) srne dve vitke, tanke kosti u odnosu na ovcu kod koje su te kosti mnogo jače i teže. Naročito treba istaći međukoštane prostore (*Spatium interosseum antebrachii*). Kod srne postoje dva, a kod

ovce jedan. Kod srne je proksimalni međukoštani prostor (*Spatium interosseum antebrachii proximale*) dužine 5 cm i širine 0,1–0,3 cm, a distalni (*Spatium interosseum antebrachii distale*) dužine 3,5 cm i širine 0,1 cm. Kod ovce je proksimalni (*Spatium interosseum antebrachii proximale*) dužine 2 cm i širine 0,3 cm.

Lakatna kost srne (*Ulna*) je tanka, vitka kost i naslanja se samo kranijalnim rubom na žbicu (*Radius*). Kod ovce je ta kost jača i naslanja se celom svojom površinom. Lakatna kvrga (*Tuber olecrani*) je u ovce više trouglastog oblika, a u srne je podeljena na kranijalnu i kaudalnu kvržicu.

Na kraniomedijalnoj strani glave žbice (*Radius*) nalazi se kvržica sa rapavom površinom (*Tuberositas radii*), koja je kod ovce bolje izražena nego kod srne.

Blagojević i sar. su 2016. godine detaljno opisali morfološke karakteristike lopatice (*Scapula*) i ramene kosti (*Humerus*) srne i ovce u cilju utvrđivanja pripadnosti životinjskoj vrsti.

Lopatica (*Scapula*) ovce je šira na bazi (*Basis scapulae*) i na vratu (*Collum scapulae*) u odnosu na srnu. Lopatični greben (*Spina scapulae*) srne je mnogo duži sa akromionom izvučenim u vidu šiljka, pa je usled toga i Fossa supraspinata duža. U ovce je lopatični greben kraći i završava sa akromionom pod pravim uglom. Slobodni rub na sredini grebena lopatice je nešto deblji u ovce, dok je u srne izrazito tanak. Margo dorsalis u srne ima plići ili dublji žleb, koji se nalazi bliže sredini lopatice. Takav žleb je neznatan na lopatici ovce ili ga uopšte nema.

Naročito je interesantna za upoređivanje lopatična čašica (*Cavitas glenoidalis*). U ovce je ovalnog oblika, a u srne je okrugla. U ovce se sa kranijalne strane čašice nalazi dobro razvijena koštana kvržica (*Tuberculum glenoidale*) i na njoj, na medijalnoj strani vrlo jak koštani kljunasti izdanak (*Processus coracoideus*). Kod srne su koštana kvržica (*Tuberculum supraglenoidale*) i kljunasti izdanak (*Processus coracoideus*) su slabije razvijeni.

Ramena kost (*Humerus*) srne je srazmerno duga, vitka kost sa proksimalnim konveksitetom okrenutim kranijalno u odnosu na istu kost ovce koja je jača i teža. *Tuberculum majus* i *Tuberculum minus* su kod ovce bolje razvijeni nego kod srne.

Tuberositas deltoidea je kod srne relativno slabo razvijen, tako da na pojedinim kostima predstavlja samo neznatnu rapavu površinu, dok kod ovce predstavlja izraziti greben, koji se nalazi sa lateralne strane proksimalnog dela ramene kosti. *Tuberositas teres major* često se ne može uočiti u obe životinje, a ako je i razvijen predstavlja samo rapavu površinu.

Na zglobnom valjku ramene kosti (*Trochlea humeri*) srne i ovce medijalni kondilus (*Condylus medialis*) je veći od lateralnog kondilusa (*Condylus lateralis*).

Na medijalnom kondilusu ramene kosti ovce se nalazi plitak i širok žleb, a kod srne žleb je dublji i uži. Greben koji razdvaja oba kondilusa kod ovce je niži, a kod srne viši i na proksimalnom delu pojava nešto lateralno.

Blagojević i sar. su 2016. godine opisali kosti prednjeg donožja ili metakarpalne

kosti (*Ossa metacarpi*) srne i ovce, koje se razlikuju kako po broju, tako i po razvijenosti i položaju.

U srne su razvijene četiri metakarpalne kosti : druga (*Os metacarpale secundum*), treća (*Os metacarpale tertium*), četvrta (*Os metacarpale quartum*) i peta (*Os metacarpale quintum*). Treća i četvrta metakarpalna kost kod srne su dve dugačke kosti srasle skoro celom dužinom i čine jednu jedinstvenu kost, koja se zove glavna metakarpalna kost. Ona je razdvojena samo na distalnom delu jednim sagitalnim žlebom na kome se nalaze dve zglobne površine. Druga i peta metakarpalna kost u srne su dve tanke i dugačke kosti, dužine 6-7 cm, čiji su proksimalni delovi zašiljeni, a na distalnim delovima se nalaze zglobne površine za zglobljavanje sa prvim člankom drugog i petog prsta. Kod srne su druga i peta metakarpalna kost spojene samo vezivnim tkivom za distalne delove treće i četvrte metakarpalne kosti.

U ovce su razvijene tri metakarpalne kosti : treća (*Os metacarpale tertium*), četvrta (*Os metacarpale quartum*) i peta (*Os metacarpale quintum*). Treća i četvrta metakarpalna kost su dobro razvijene i celom dužinom međusobno srasle, stvarajući tako jednu kost, koja se zove isto kao u srne glavna metakarpalna kost. Peta metakarpalna kost u ovce može biti različite dužine, a često je i nema ili je razvijena u vidu grebena.

Na dorzalnoj površini glavne metakarpalne kosti u srne se nalazi uzan i dubok žleb (*Sulcus longitudinalis dorsalis*), koji je kod ovce plitak i širi i kod obe životinje

završava nutritivnim otvorom (*Foramen nutricium*).

Na palmarnoj strani glavne metakarpalne kosti u srne se nalazi širok i dubok mišićni žleb, koji se gubi na distalnom delu kosti. U ovce pomenuti žleb je plići i širi.

Na distalnom delu prednjeg ekstremiteta u srne postoje četiri, a u ovce dva prsta. U srne su razvijeni drugi, treći, četvrti i peti prst, a u ovce treći i četvrti. Svaki prst u srne i ovce se sastoji iz tri članka. Članci trećeg i četvrtog prsta u srne su užji, nešto duži, tanji i lakši u poređenju sa istim kod ovce.

Blagojević i sar. su 2016. godine opisali kosti zadnjeg donožja ili metatarzalne kosti (*Ossa metatarsi*) u srne i ovce, koje se razlikuju po broju, obliku, veličini i položaju. U srne, slično metakarpalnim kostima, razvijene su četiri metatarzalne kosti : druga (*Os metatarsale secundum*), treća (*Os metatarsale tertium*), četvrta (*Os metatarsale quartum*) i peta (*Os metatarsale quintum*). U ovce su razvijene dve metatarzalne kosti : treća (*Os metatarsale tertium*) i četvrta (*Os metatarsale quartum*).

Kod srne i ovce treća i četvrta metatarzalna kost (kao i treća i četvrta metakarpalna kost) su srasle celom dužinom stvarajući glavnu metatarzalnu kost, koja je u distalnom delu razdvojena. Metatarzalne kosti su duže za jednu sedminu od metakarpalnih kostiju. Na dorzalnoj i plantarnoj strani metatarzalnih kostiju srne i ovce, slično kao kod metakarpalnih kostiju se nalaze žlebovi, koji su kod srne duboki i uzani, a kod ovce plići i širi.

Na distalnom delu zadnjeg ekstremiteta u srne postoje četiri, a u ovce dva prsta, kao kod prednjeg ekstremiteta. Treći i četvrti prst na zadnjem ekstremitetu u srne i ovce se sastoji iz tri članka i po tome se razlikuju od prednjeg ekstremiteta srne, gde svaki prst, uključujući drugi i peti se sastoji iz tri članka. Razlika postoji u broju članaka drugog i petog prsta u srne. U srne drugi i peti prst se sastoje iz dva članka, odnosno iz sraslog prvog i drugog članka i trećeg članka.

Ako treba izvršiti veštačenje i dati stručno mišljenje, onda za to može da posluži treći članak trećeg i četvrtog prsta na prednjem ili zadnjem ekstremitetu. On je karakterističnog izgleda i na osnovu njega se može razlikovati jedna od druge životinje. Tabanski rub (*Margo solearis*) u srne je zašiljen, a u ovce zatupast. Kod srne je zašiljen i Processus extensorius na krunskom rubu (*Margo coronalis*), dok je u ovce zatupast i iza njega se nalazi jedan žleb.

Cilj ovog rada je da se opišu uporedne razlike potkolenih kostiju srne i ovce, na osnovu kojih se može utvrditi poreklo ispitivanih kostiju. Dobijeni podaci su važni za identifikaciju i kao takvi se mogu koristiti u forenzičke svrhe.

MATERIJAL I METODE RADA / MATERIAL AND METHODS

Za ispitivanje uporednih karakteristika potkolenih kostiju (*Ossa cruris*) upotrebljeno je 6 potkolenih kostiju od srne i 8 od ovce. Kosti su mehanički odvojene od mekih tkiva (koža, mišići, arterijski, venski, limfni sudovi i nervi), a zatim

su termički obrađene u autoklavu. Posle kuvanja, kosti su stavljene u 3% rastvor vodonik peroksida (H_2O_2), radi beljenja i odmašćivanja. Kosti su sušene prirodnim putem na vazduhu, a zatim su fotografisane.

Pored sveže ispreparisanih kostiju, korišćene su i kosti iz bogate kolekcije muzeja Katedre za anatomiju Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu.

РЕЗУЛТАТИ I ДИСКУСИЈА / RESULTS AND DISCUSSION

U potkolene kosti spadaju golenjača (*Tibia*) i lisnjača (*Fibula*). Golenjača je duga cevasta kost kod srne (slike 1₁, 3₁) i ovce (slike 2₁, 4₁) (Janković i Popović, 1985; König i Liebich, 2009). Dužina golenjače kod srne iznosi 23,5-25,2 cm, a obim 4,4-4,5 cm, dok kod ovce dužina golenjače iznosi 20-22 cm, a obim 4,8-5 cm. Dužina lisnjače kod mladih srna je slabo razvijena i njena dužina iznosi 7 mm (slika 3₂), a kod starijih srna predstavlja tanku izduženu košćicu dužine 2,5 cm (slika 1₂). Kod ovce lisnjača je zakržljala (slike 2₂, 4₂). Između golenjače i lisnjače kod srne se nalazi međukoštani prostor (*Spatium interosseum cruris*). Njegova dužina iznosi od 5 mm do 2,2 cm, a širina od 6 mm do 1,1 cm, u zavisnosti od starosti životinje.

Na proksimalnom delu golenjače srne i ovce se nalazi *Condylus lateralis* (slike 1₃, 3₃, 2₃, 4₃) i *Condylus medialis* (slike 3₄, 2₄, 4₄), koji služe za zglobljavanje sa butnom kosti (Barone, 1966; Rebesko i Riggler, 1983). Obe zglobne kvrge (*Condylus*

lateralis et condylus medialis) kod ovce su veće, masivnije i bolje razvijene nego kod srne (Koch, 1963). Obe zglobne površine na kondilima kod srne i ovce leže u istoj visini, a na lateralnom kondilu kod ovce štrči distalno zakržljala lisnjača, koja je kod srne bolje ili slabo razvijena, što zavisi od starosti životinje. Na kaudalnoj strani obe zglobne kvrge kod srne i ovce su razdvojene usekom (*Incisura poplitea*) (slike 3₇, 4₇). *Incisura poplitea* kod srne je široka i plitka, a kod ovce široka i duboka (Sisson, 1962; Ellenberger i Baum, 1977).

Proksimalno između dve koštane kvrge (*Condylus lateralis et condylus medialis*) se ističe koštano uzvišenje (*Eminentia intercondylaris*), koje grade dve razdvojene kvržice (*Tuberculum intercondylare laterale et tuberculum intercondylare mediale*) kod srne (slika 3_{5,6}) i ovce (slika 4_{5,6}). Koštano uzvišenje i kvržice kod srne i ovce leže u istoj visini, sa razlikom što je kod ovce koštano uzvišenje više uzdignuto i strmo, a kvržice su bolje razvijene i masivnije (Nickel i sar., 1968; Popesko, 1980). Kranijalno od koštanog uzvišenja se nalaze dve male jamice (*Areae intercondylares craniales*). Između kvržica koje grade koštano uzvišenje se nalazi takođe jedna jamica (*Area intercondylaris centralis*), a kaudalno od koštanog uzvišenja se nalazi još jedna jamica (*Area intercondylaris caudalis*). Dve kranijalne jamice kod ovce su bolje razvijene nego kod srne, dok je centralna i kaudalna jamica razvijena kod srne i ovce.

Na kranijalnoj strani golenjače, od proksimalnog dela, pruža se distalno greben golenjače (*Margo cranialis*) kod srne

i ovce (slike 1₄, 2₅). Greben je duži kod ovce, a kod obe životinje povija lateralno. Na proksimalnom delu grebena se nalazi koštana kvržica (*Tuberositas tibiae*) kod srne i ovce (slike 1₅, 2₆) (Šijački i sar., 1977; Rebesko i sar., 1986). Dužina koštane kvržice kod srne iznosi 2,5-2,8 cm, a širina 1,2-1,3 cm, dok kod ovce dužina koštane kvržice iznosi 2,7 cm, a širina 1,7-1,8 cm. Na proksimalnom delu između grebena golenjače i lateralne zglobne kvrge se obrazovao žleb za mišićne tetive (*Sulcus extensorius*) kod srne i ovce (slike 1₆, 2₇). Kod srne žleb je širi i plići, a kod ovce uži i dublji.

Na distalnom delu golenjače se nalazi izdubljena zglobna površina (*Cochlea tibiae*) kod srne i ovce (slike 1₉, 3₁₀, 5A, 2₁₀, 4₁₀, 5B). Kod obe životinje *Cochlea tibiae* leži sagitalno i sastoji se iz *Malleolus lateralis* i *malleolus medialis* (slike 1₇, 3₈, 2₈, 4₈). *Malleolus medialis* kod srne i ovce je bolje razvijen nego *Malleolus lateralis*. Na lateralnoj strani zglobne površine na distalnom kraju golenjače se nalaze još dve male zglobne površine za zglobljavanje golenjače sa *Os malleolare* kod srne i ovce (slika 5B_{3,3'}). *Os malleolare* predstavlja distalni ostatak lisnjače kod srne i ovce (slika 5A₃). Morfološke razlike u distalnim delovima golenjače (*Cochlea tibiae*) kod srne i ovce skoro i ne postoje.

ZAKLJUČAK / CONCLUSION

Pri komparativnom proučavanju morfoloških karakteristika potkolenih kostiju (*Ossa cruris*) srne (*Capreolus capreolus*) i ovce (*Ovis aries*) može se na osnovu morfoloških razlika kostiju sa sigurnošću utvrditi kojoj životinji kosti pripadaju.

LITERATURA / REFERENCES

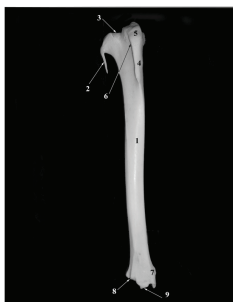
1. Barone R. (1966): *Anatomie comparée des mammifères domestiques*, Lyon.
2. Blagojević M., Aleksić Jelena (2012): *Forenzička analiza kostiju u Regio antebrachii srne (Capreolus capreolus) i ovce (Ovis aries) u cilju utvrđivanja pripadnosti životinjskoj vrsti*. Veterinarski glasnik, 66 (3-4): 325-331.
3. Blagojević M., Nikolić Zora, Prokić B.B., Čupić Miladinović Dejana (2016): *Uparedne karakteristike lopatice (Scapula) i ramene kosti (Humerus) srne (Capreolus capreolus) i ovce (Ovis aries) u cilju utvrđivanja pripadnosti životinjskoj vrsti*. Veterinarski glasnik, 70 (1-2): 41-50.
4. Blagojević M., Nikolić Zora, Zorić Z., Čupić Miladinović Dejana (2016): *Uparedne karakteristike metatarzalnih kostiju (Ossa metatarsi) i članaka prstiju (Ossa digitorum pedis seu phalanges digitorum) srne (Capreolus capreolus) i ovce (Ovis aries) u cilju utvrđivanja vrste životinja*. Veterinarski glasnik, 70 (3-4): 111-119.
5. Blagojević M., Nikolić Zora, Zorić Z., Prokić B.B., Čupić Miladinović Dejana (2016): *Uparedne karakteristike metakarpalnih kostiju (Ossa metacarpi) i članaka prstiju (Ossa digitorum manus seu phalanges digitorum) srne (Capreolus capreolus) i ovce (Ovis aries) u cilju utvrđivanja vrste životinja*. Veterinarski glasnik, 70 (5-6): 215-223.

6. Ellenberger W., Baum H. (1977): *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere*. 18 Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
7. Janković Ž., Popović S. (1985): *Anatomija domaćih životinja, Osteologija i miologija*. Veterinarski fakultet, Savez veterinara i veterinarskih tehničara Jugoslavije, Odbor za izdavačku delatnost, Beograd.
8. König H. E., Liebich H. G. (2009): *Anatomija domaćih sisavaca*, Treće prerađeno i prečišćeno nemačko izdanje, Prvo hrvatsko izdanje, Naklada Slap, Zagreb.
9. Koch T. (1963): *Lerbuch der Veterinar-Anatomie, Band II*, Jena.
10. Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (1968): *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band I, Bewegungsapparat*, Paul Parey, Berlin und Hamburg.
11. Nomina anatomica veterinaria. (2012): *Fifth edition (revised version)*. Published by the Editorial Committee Hannover (Germany), Columbia, MO (U.S.A), Ghent (Belgium), Sapporo (Japan).
12. Popesko P. (1980): *Anatomski atlas domaćih životinja III. Atlas topografske anatomije domaćih životinja, treći svezak-zdjelica i udovi*. Jugoslovenska medicinska naklada, Zagreb.
13. Rebesko B., Rigler L. (1983): *Slikovni priročnik za anatomiju domaćih živali*. Državna založba Slovenije, Ljubljana.
14. Rebesko B., Rigler L., Zobundžija M., Janković Ž. (1986): *Slikovni priročnik anatomije domaćih živali*. Državna založba Slovenije, Ljubljana.
15. Sisson S. (1962): *The anatomy of the domestic animals*. W. B. Saunders Company Philadelphia.
16. Šijački N., Jablan-Pantić O., Pantić V. (1977): *Morfologija domaćih životinja*, Nauka, Beograd.

Rad primljen: 24.01.2017.

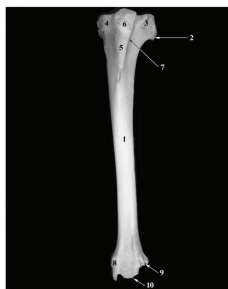
Rad одобрен: 18.06.2017.

Slika 1. Potkolene kosti srne (*Ossa cruris capreolus capreolus*). Golenjača i lisnjača (*Tibia et fibula*). Desni zadnji ekstremitet, kranijalna strana



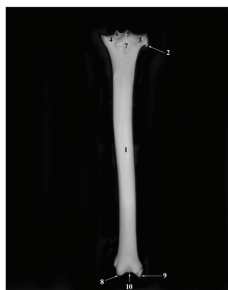
1 - Tibia, 2 - Fibula, 3 - Condylus lateralis, 4 - Margo cranialis, 5 - Tuberositas tibiae, 6 - Sulcus extensorius, 7 - Malleolus medialis, 8 - zglobna površina za zglobljavanje sa Os malleolare, 9 - Cochlea tibiae

Slika 2. Potkolene kosti ovce (*Ossa cruris ovis*). Golenjača i lisnjača (*Tibia et fibula*). Levi zadnji ekstremitet, kranijalna strana



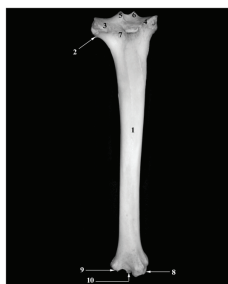
1 - Tibia, 2 - zakrčljala fibula, 3 - Condylus lateralis, 4 - Condylus medialis, 5 - Margo cranialis, 6 - Tuberositas tibiae, 7 - Sulcus extensorius, 8 - Malleolus medialis, 9 - zglobna površina za zglobljavanje sa Os malleolare, 10 - Cochlea tibiae

Slika 3. Potkolene kosti srne (*Ossa cruris capreolus capreolus*). Golenjača i lisnjača (*Tibia et fibula*). Desni zadnji ekstremitet, kaudalna strana



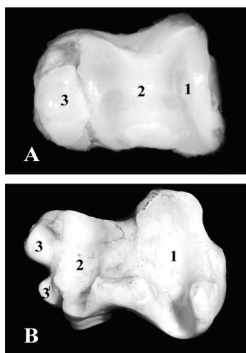
1 - Tibia, 2 - zakrčljala fibula, 3 - Condylus lateralis, 4 - Condylus medialis, 5 - Eminentia intercondylaris et tuberculum intercondylare laterale, 6 - Eminentia intercondylaris et tuberculum intercondylare mediale, 7 - Incisura poplitea, 8 - Malleolus medialis, 9 - zglobna površina za zglobljavanje sa Os malleolare, 10 - Cochlea tibiae

Slika 4. Potkolene kosti ovce (*Ossa cruris ovis*). Golenjača i lisnjača (*Tibia et fibula*). Levi zadnji ekstremitet, kaudalna strana



1 - Tibia, 2 - zakrčljala fibula, 3 - Condylus lateralis, 4 - Condylus medialis, 5 - Eminentia intercondylaris et tuberculum intercondylare laterale, 6 - Eminentia intercondylaris et tuberculum intercondylare mediale, 7 - Incisura poplitea, 8 - Malleolus medialis, 9 - zglobna površina za zglobljavanje sa Os malleolare, 10 - Cochlea tibiae

Slika 5. Izdubljena zglobna površina na golenjači (*Cochlea tibiae*). Levi zadnji ekstremitet, distalni kraj golenjače, pogled odozdo kod srne (*Capreolus capreolus*) A i ovce (*Ovis aries*) B



1,2 - zglobna površina, A₃ - Os malleolare, B_{3,3'} - dve male zglobne površine za zglobljavanje golenjače sa Os malleolare

DOI: 10.7251/VETJ1701067F

UDK: 504.4:351.759.6[619:616.993

Jasmin Ferizbegović, Elvira Hadžiahmetović Jurida, Mersad Purdić, Sandra Đapo, Sanin Tanković*

Pregledni rad

UPRAVLJANJE RIZICIMA OD POPLAVA I KLIZIŠTA

Kratak sadržaj

Poplave se uglavnom javljaju kao posljedica promjene režima padavina i predstavljaju najznačajniju i najučestaliju prirodnu nesreću povezanu s klimatskim promjenama. Klimatske promjene su kontinuiran proces koji uzrokuje: globalno otopljavanje, podizanje nivoa mora, promjenu režima padavina, povećanje broja olujnih vjetrova te sve veću ograničenost pristupa izvorima pitke vode. Ovi događaji često dovode do tzv. „vanrednih stanja“ i značajno utiču na zdravlje ljudi i životinja, narušavajući uobičajene uslove za život kao što su (smještaj, vodosnabdijevanje, ishrana). Kao posljedica takvih uslova, javlja se rizik od pojave različitih zaraznih i parazitarних oboljenja, kao i rizik od povećanja broja oboljelih od masovnih nezaraznih oboljenja. U periodu od 29.04. do 4.05.2014. godine prema izvještaju Federalnog hidrometeorološkog zavoda BiH, na području općine Tuzla u prosjeku je palo više od 70 l/m² kiše. Uslijed ovako velikih padavina i nastalih poplava, a posebno intenzivnog klizanja zemljišta, pričinjene su ogromne materijalne štete, na cijelom području općine Tuzla. Pomoć u spašavanju stanovništva i materijalnih dobara pružena je od strane angažovanih službi zaštite i spašavanja, pravnih lica, Oružanih snaga BiH, dobrovoljaca, udruženja građana i raznih vladinih i nevladinih organizacija i humanitarnih organizacija. Samo adekvatno, to znači stručno i profesionalno provođenje svih mjera može dati zadovoljavajuće rezultate, smanjiti rizike i ublažiti njihove štetne posljedice uzrokovane poplavama i nastalim klizištima.

Ključne riječi: *poplave, klimatske promjene, vanredna stanja, oboljenja.*

* Jasmin Ferizbegović, Dr.sc., redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Tuzli
Elvira Hadžiahmetović Jurida, Dr.sc., docent., Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Tuzli
Mersad Purdić, dr. vet., JU Veterinarska stanica Tuzla
Sandra Đapo, Prirodno-matematički fakultet Univerzitet u Tuzli
Sanin Tanković, Dr.sc., Ured za veterinarstvo BiH

DOI: 10.7251/VETJ1701067F

UDK: 504.4:351.759.6[619:616.993

Jasmin Ferizbegović, Elvira Hadžiahmetović Jurida, Mersad Purdić, Sandra Djapo, Sanin Tanković*

Review paper:

FLOODS AND LANDSLIDES RISK MANAGEMENT

Summary

Floods mainly occur as a result of the change of precipitation regime and represent the most significant and most frequent natural disaster associated with climate change. Climate change is a continuous process that causes global meltdown, rising sea levels, changing rainfall patterns, increasing number of storm winds and increasing access to water sources. These events often lead to states of emergency and have a significant impact on the health of humans and animals, violating the usual living conditions such as (accommodation, water supply, nutrition). As a result of such conditions, there is a risk of the occurrence of various contagious and parasitic diseases, as well as the risk of an increase in the number of non-contagious diseases. In the period from 29 April to 4 May 2014, according to the report of the Federal Meteorological Institute of Bosnia and Herzegovina, there was more than 70 l/m² of rainfall in the area of Tuzla Municipality, on average. Due to such heavy rainfall and flooding, and particularly intense landslides, huge material damage occurred in the whole territory of Tuzla Municipality. Assistance in rescuing population and material assets was provided by the engaged security and rescue services, legal entities, the Armed Forces of BiH, volunteers, citizen associations and various governmental and non-governmental organizations and humanitarian organizations. Only adequate, which means professional and professional implementation of all measures can yield satisfactory results, reduce the risks and mitigate their adverse effects caused by floods and incidental landslides.

Key words: *floods, climate change, states of emergency, diseases*

UVOD

Poplave se uglavnom javljaju kao posljedica promjene režima padavina i predstavljaju najznačajniju i najučestaliju pri-

rodnu nesreću povezanu s klimatskim promjenama. Globalno uzevši, poplave značajno utiču na epidemiološku situaciju na nekom području dovodeći do porasta morbidi-

* Jasmin Ferizbegović, Elvira Hadžiahmetović Jurida, Sandra Djapo, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Tuzla, B&H;
Mersad Purdić, PI Veterinary Station Tuzla, B&H;
Sanin Tanković, State Veterinary Office of B&H

teta zaraznih i nezaraznih oboljenja, u manjoj mjeri utiču i na povećanje mortaliteta (Huseinbašić, 2013). Najvećem zdravstvenom riziku su izložene vulnerabilne skupine stanovništva, prije svega, djeca, trudnice, hronični bolesnici, stariji i nemoćni ljudi.

Klimatske promjene su kontinuiran proces koji uzrokuje: globalno otopljanje, podizanje nivoa mora, promjenu režima padavina, povećanje broja olujnih vjetrova te sve veću ograničenost pristupa izvorima pitke vode (Mills, 2009). Ove promjene se dešavaju u cijelom svijetu, uključujući zemlje jugoistočne Evrope, što podrazumijeva i Bosnu i Hercegovinu. Uz klimatske promjene, uglavnom se vezuju ekstremni događaji kao što su: obilne padavine, jake suše, uraganski vjetrovi te vulkanske erupcije i razorni zemljotresi. Ovi događaji često dovode do tzv. „vanrednih stanja“ i značajno utiču na zdravlje ljudi i životinja, narušavajući uobičajene uslove za život kao što su smještaj, vodosnabdijevanje, ishrana. Kao posljedica takvih uslova, javlja se rizik od pojave različitih zaraznih i parazitarних oboljenja, kao i rizik od povećanja broja oboljelih od masovnih nezaraznih oboljenja. Kod vanrednih stanja je izuzetno značajno istaći da je stres uobičajena pojava, što opet dodatno disponira nastanku različitih oboljenja (Kovats i sur., 1995). Vanredna stanja izazivaju zdravstvene posljedice kod svih dobnih grupa i socijalnih kategorija, a najvulnerabilniji su kao što smo to već istakli djeca, trudnice, stare, bolesne i nemoćne osobe (Kim i sur., 2014). Poplave i klizišta su prirodne nesreće kojima je, prema procjenama stručnjaka za sigurnost, izloženo oko 102 miliona ljudi širom svijeta. Zahvataju ruralna i urbana područja, ali

se cijeni da su štete koje nastaju u urbanim područjima značajno veće. Poplave čine oko 31% svih rizika značajnih za Bosnu i Hercegovinu, a izloženo im je oko 60% ravnica područja uz velike rijeke. Često se uz poplave javljaju i klizišta što uzrokuje višestruke dodatne štete. U maju i augustu 2014. godine, dogodile su se dvije velike poplave koje su zahvatile veliku površinu BiH, uzrokovalе ljudske gubitke i veliku materijalnu štetu.

Poplave i klizišta mogu uzrokovati ozbiljne zdravstvene posljedice kod svih kategorija stanovništva, bez obzira na dob, spol, socijalni status. Neki zdravstveni rizici su karakteristični za pojedine grupe stanovnika pa su riziku od utapanja najviše izložena djeca, stare i nemoćne osobe. Muškarci starije dobi 15–29 godina najčešće učestvuju u spašavanju ljudi i dobara tokom poplava te su zbog toga posebno izloženi riziku od različitih povreda. Posebno je značajno istaći da sve ove činjenice treba uzeti u obzir, naročito kod planiranja mjera zaštite stanovništva.

Smrt zbog utapanja je direktna posljedica poplava koja je najčešća kod djece i starih osoba te kod neplivača bilo koje dobne grupe (Patz i sur., 2000). Rizik od povređivanja je kontinuirano prisutan tokom poplava isto tako i nakon povlačenja vode s poplavljenih područja.

Poremećeno vodosnabdijevanje dovodi do najznačajnijih zdravstvenih rizika povezanih s poplavama. Poplave često oštećuju sistem za vodosnabdijevanje pa u vodu ulaze različite hemijske materije i mikroorganizmi. Najčešće su to bakterije (*Escherichia coli*, *Campylobacter spp.* i *Leptospira spp.*),

virusi (polio, virus hepatitisa A, hepatitisa E), protozoe (*Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*) i helminti (*Ascaris*). Poremećaji u osiguravanju te pripremi i distribuciji hrane, uvijek predstavljaju važnu grupu zdravstvenih rizika uzrokovanih poplavama. Poremećeni smještajni uslovi nastaju kao posljedica plavljenja stambenih objekata (De Freitas i sur., 2012). Onečišćenje prostora nastaje ulaskom plavne vode u stambene prostore gdje dolazi do devastiranja namještaja i opreme koja se u njima nalazi. Poremećaj rada zdravstvene i veterinarske službe nastaje zbog plavljenja zdravstvenih ustanova i veterinarskih organizacija, prekida u napajanju električnom energijom, što otežava rad na dijagnostici i liječenju pojedinih oboljenja (Du i sur., 2010). Značajan rizik od pojave oboljenja koja prenose insekti postoji ako se poplave jave u toplom periodu godine i ako se voda duže zadrži na tlu. Također, rizik od oboljenja za koja su rezervoari i izvori glodari je jako visok, prije svega zbog naglog povećanja populacije glodara u neposrednoj blizini ljudi. Neadekvatno zbrinjavanje leševa životinja se često dešava u toku poplava jer poplave do vode do masovnog uginuća životinja. Leševi uginulih životinja predstavljaju veliki epidemiološko-epizootiološki rizik, kako za ljude tako i za životinje (UNISDR, 2006).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Značajno je istaći da pojava poplave nosi rizik od zaraznih bolesti, jer često dolazi do prekida snabdijevanja vodom i dispozicije otpadnih tvari, uključujući i izlivanje kanalizacije. Oštećene vodovodne i kanalizacione cijevi značajno povećavaju mogućnost kontaminacije vode

za piće (Greenough i sur., 2001). Zagađenom vodom i hranom prenose se crijevne i kožne zarazne bolesti, parazitarne bolesti itd. Povećan broj glodara i zmija za vrijeme poplava predstavljaju veliki rizik za zdravlje. Povećana je opasnost od životinjskih ugriza, najčešće pasa, što može dovesti do infekcije uzročnikom bjesnila. Velika stajaća vodena površina omogućava razmnožavanje komaraca i drugih insekata, koji prenose uzročnike niza oboljenja (Ahern i sur., 2005). Srušene električne instalacije, vodom namočene električne utičnice, prekinute plinske cijevi i veliki komadi krhotina predstavljaju opasnosti za zdravlje. Ozlijeđenim osobama prijeti i tetanus (Ivers i sur., 2006). Na područjima gdje su se vodile ratne operacije prijeti opasnost od mina i neeksplodiranih ubojitih sredstava.

Voda za piće može biti zagađena u poplavljenim područjima, zbog toga vodu sa slavine ne treba piti dok se laboratorijском analizom ne uvjeri da je sigurna za konzumaciju. Do tada treba piti isključivo prokuhanu, dezinficiranu ili flaširanu vodu. Voda se propisno prokuhava tako što se ostavi da ključa minimalno nekoliko minuta, kako bi se uništile sve bakterije. Ako je voda zagađena hemikalijama, prokuhavanje je neće učiniti prikladnom za piće i takva voda se ne smije koristiti. Ukoliko se voda za piće dezinficira, dezinfekciju vršiti prema uputstvu proizvođača za doziranje. U slučaju nejasnoća vezanih za doziranje dezinfekcionog sredstva, obratiti se ustanovi od koje je sredstvo nabavljeno ili dobiveno (Lowe i sur., 2013). Ukoliko se za malu djecu koristi samo industrijski pripremljena hrana u limenka-

ma (dječija formula) pripremati je isključivo sa prokuhanom vodom i po uputstvu navedenom na pakovanju. Neprokuhana i nedezinficirana voda se ne smije upotrebljavati ni za pranje suđa, zuba, lica, ruku, pranje i pripremu namirnica i pravljenje leda. Neophodno je održavanje lične higijene, naročito često pranje ruku sapunom (prije jela, nakon upotrebe WC-a, nakon čišćenja naplavnog otpada i nakon rukovanja artiklima koji su došli u kontakt sa naplavnom ili kanalizacijskom vodom). Posebnu pažnju treba obratiti na čistoću ruku kod djece (Kouadio i sur., 2012).

Nakon poplava treba se držati se što dalje od oborenih električnih vodova, a njihovu lokaciju prijaviti elektrodistribuciji. Prijaviti eventualna oštećenja plinovoda i plinskih uređaja i ne koristiti ih dok se ne poprave. Neophodan je pregled instalacija za dostavu plina i električne energije od strane kvalificiranih stručnjaka. Izbjegavati vožnju automobilom zbog mogućeg oštećenja cesta u poplavljenom području. Od komunalnih preduzeća tražiti uslugu čišćenja oštećenih septičkih jama i ispiranje kanizacionog sistema. Zbog mogućnosti miješanja sa kanalizacionom vodom obavezno je čišćenje (vrućom vodom i deterdžentom uz obavezno korištenje gumenih rukavica) i dezinficiranje zidova i podova prostorija u koje je dospjela voda za vrijeme poplave. Zagađene predmete i materijale koji se ne mogu očistiti i dezinficirati baciti. Pranje odjeće i čišćenje obuće, pranje i dezinficiranje dječijih igračaka. Hranu koja je došla u direktan kontakt sa poplavnom vodom, kao i sve kvarljive hrane koja je stajala duže od 4 sata na temperaturi od

5°C treba baciti. Čišćenje neoštećenih liamenki koje su došle u kontakt sa poplavnom vodom te radnih ploha i pribora za jelo i kuhanje (Diaz, 2014). Treba izvršiti mjere dezinfekcije i deratizacije, a ako to rade osobe koje nisu edukovane za izvođenje ovih mjera, moraju da imaju u vidu činjenicu da insekticide i mamce za trovanje štetnih glodara treba držati van dohvata djece. Zbog povreda koje se veoma česte u naplavljenim područjima, važno je znati da se otvorene rane moraju tretirati u skladu sa principima struke, očistiti i zaštititi flasterom ili zavojem, kako bi se spriječila infekcija. Nekada je potreban i dodatni tretman (npr. vakcinisanje protiv tetanusa), a liječničku pomoć je obavezno potražiti ako se pojave crvenilo, otok ili gnojni iscjedak na rani. Liječničku pomoć treba potražiti i u slučaju pojave mučnine, povraćanja, slabosti, proliva, povišene temperature itd. (Agrawal i Gopalakrishnan, 2013).

POPLAVE U BIH 2014. GODINE

U periodu od 29.04. do 4.05.2014. godine kada je, prema izvještaju Federalnog hidrometeorološkog zavoda BiH, na području općine Tuzla u prosjeku palo više od 70 l/m² kiše. Intenzivne padavine nastavile su se i 13–15. maja kada je palo 248,2 l/m², prouzrokovalo je plavljenje većih područja općine Tuzla i enormno povećanje broja prijava o nastanku novih klizišta. Prijave o štetama i ugrožavanju objekata, puteva, zemljišta i života građana, stizale su svaki čas, tako da je u nekim trenucima dolazilo do zagušenja telefonskih linija u Operativnom centru civilne zaštite i Službi civilne zaštite. Uslijed

ovako velikih padavina i nastalih poplava, a posebno intenzivnog klizanja zemljišta, pričinjene su ogromne materijalne štete, na cijelom području Općine Tuzla.

Naredbom OŠCZ Tuzla angažovani su Službe zaštite i spašavanja:

- Služba civilne zaštite – Profesionalna vatrogasna jedinica;
- Služba za čistoću i asanaciju terena – JKP “Komunalac” Tuzla;
- Služba za vodosnabdijevanje – JKP “Vodovod i kanalizacija” Tuzla;
- Služba za medicinsku pomoć – JZNU Dom zdravlja „Dr Mustafa Šehović” Tuzla;
- Služba zaštite i spašavanja Crvenog križa/krsta općine Tuzla
- Služba za zaštitu životinja i namirnica životinjskog porijekla – JP „Veterinarska stranica” Tuzla;
- Služba za informisanje – JP „RTV 7” Tuzla.

Angažovane službe zaštite i spašavanja, svaka iz domena svoje nadležnosti, uspješno su odgovorile svojim zadacima i izvršile sve naredbe OŠCZ Tuzla i po pozivu odgovarale na zahtjeve Općinske službe civilne zaštite kao i sva pravna lica koja čiji je osnivač grad Tuzla i drugi. Pomoć u spašavanju stanovništva i materijalnih dobara pružena je od strane angažovanih službi zaštite i spašavanja, pravnih lica, Oružanih snaga BiH, dobrovoljaca, udruženja građana i raznih vladinih i nevladinih organizacija i humanitarnih organizacija. Na evakuisanju i zbrinjavanju eva-

kuisanih osoba bila je angažovana Služba zaštite i spašavanja Crvenog križa/krsta općine Tuzla, Profesionalna vatrogasna jedinica Tuzla i Tim za evakuaciju i zbrinjavanje (Naredba OŠCZ Tuzla, broj:11-44-31-15/2014 od 15.05.2014.godine

Posebno je značajno naglasiti da zagađena voda može sadržavati različite patogene mikroorganizme koji u organizam čovjeka ulaze preko probavnog trakta, dišnih puteva i kože. Takva voda nije za piće, isto tako kupanje u njoj predstavlja opasnost po zdravlje. Vodom se šire brojne virusne, bakterijske, parazitarne i gljivične bolesti. Najznačajnije za našu zemlju su: virusni hepatitis A, poliovirus, trbušni tifus i paratifus, druge salmoneloze, bacilarna disenterija, leptospiroze, konjuktivitis, streptokokoze, amebijaza, đardijaza itd. (Alderman i sur., 2012). Klinički znaci i simptomi bolesti ovise o brojnim faktorima: vrsti uzročnika, broju bakterija, virusa, cisti i jaja parazita, količini bakterijskog ili gljivičnog otrova koji su uneseni u organizam, te imunitetu samog domaćina. Infekcija može proći bez posljedica ili ostavlja trajna oštećenja pojedinih organa ili organskih sistema (Holcer i sur., 2014).

Hrana može sadržavati različite infektivne agense (bakterije, viruse, parazite i gljive) i njihove toksine. Hrana, naročito ona bogata bjelančevinama i ugljikohidratima je pogodna sredina za razmnožavanje bakterija. Kao posljedica konzumiranja kontaminirane hrane može nastati/nastaje intoksikacija (trovanje), toksikoinfekcija (trovanje i infekcija), infekcija ili infestacija (naseljavanje parazita). Znaci i

simptomi bolesti mogu se javiti za nekoliko sati ako je u pitanju trovanje ili nakon više dana ili nekoliko sedmica nakon infekcije (Ban i sur., 2010).

Mnogi insekti su poznati prenosioci zaraznih bolesti. Neki od njih, npr. muhe, prenose patogene mikroorganizme na nazašticenu hranu, mehanički na svojim nožicama i krilima. Drugi insekti su biološki vektori u kojima se razvijaju patogeni mikroorganizmi koje oni tokom sisanja krvi na ljudskom tijelu ubacuju u krv. U našoj zemlji od značaja su komarci koji prenose bolest zapadnog Nila, pješčane mušice koje prenose lišmaniozu i papataći groznicu, krpelji koji prenose lajmsku bolest i krpeljni encefalitis. Bliski kontakt velikog broja ljudi u kolektivnim smještajima, bez uslova za održavanje higijene, značajno pogoduju širenju šuge, vašljivosti i crijevnih parazitoza posebno đardijaze i enterobijaze (Drandt i sur., 2006).

Postupanje sa životinjama u slučaju elementarne nepogode:

- Evakuisati životinje sa kriznih područja, misli se na (priobalna mjesto, klizišta, odroni...) nanajbliže sigurno mjesto (npr. u plavnim područjima to može biti nasip)
- Životinje izmjestiti iz vlažnih objekata na suho i prozračno mjesto.
- U slučaju pronalaska leševa uginulih životinja obavijestiti nadležnu veterinarsku, općinsku organizaciju ili civilnu zaštitu koja će poduzeti mjere za neškodljivo uklanjanje i sve druge mjere iz svoje nadležnosti.
- Lešine uginulih životinja ne dirati niti pokušavati samostalno uklanjati.
- Objekte za smještaj životinja isušiti, mehanički očistiti i izvršiti preventivne mjere DDD-a» prije ponovnog smještanja i uzgoja životinja;
- Životinjama davati samo higijenski ispravnu hranu i vodu, a hranu koja je došla u kontakt sa poplavnom vodom ne davati životinjama;
- U slučaju bolesti i promjene zdravstvenog stanja životinja odmah obavijestiti nadležnu Veterinarsku stanicu sa svog područja.

Nakon nastanka elementarne nepogode životinje s poplavljenih područja su zbrinjavane na različite načine. Kako bi se mogle provesti mjere usmjerene na sprječavanje širenja zaraznih bolesti životinja, a također i zoonoza, potrebno je provesti sve postupke neophodne za evidentiranje trenutnog mjesta boravka svih evakuiranih. U početnoj fazi prioritet je u sklopu sanacije terena načiniti neškodljivo zbrinjavanje lešina u što kraćem vremenskom roku zbog smanjivanja rizika od širenja zaraznih bolesti. Usporedno s prethodnim, neophodno je preko ovlaštenih veterinarskih organizacija i prikupljanjem izjava vlasnika gospodarstava ustanoviti tačnu lokaciju i način privremenog smještanja životinja, uključujući i kućne ljubimce s gospodarstava iz poplavljenog područja (Chen i sur., 2007).

U skladu sa ustanovljenim stanjem na pojedinom gospodarstvu, ukoliko je moguće, potrebno je kategorizirati gospodarstva na sljedeći način:

- **Gospodarstva niskog rizika** – gospodarstva za koja postoji dokaz o dopremanju životinja unutar 24 sata prije nastanka poplave te za koje je moguće sa sigurnošću ustanoviti porijeklo i imaju istovjetan zdravstveni status s obzirom na propisane mjere kontrole zaraznih bolesti kao i životinje na gospodarstvu na kojem su zbrinute.
- **Gospodarstva visokog rizika** – gospodarstva na koje su dopremljene životinje nakon poplave ili za koje nije moguće sa sigurnošću ustanoviti porijeklo i vrijeme stavljanja u promet te gospodarstva na koje su dopremljene životinje nepoznatog zdravstvenog statusa s obzirom na propisane mjere kontrole zaraznih bolesti.

Mjere koje se propisuju na pojedinom gospodarstvu odnose se na sve zatečene i zbrinute životinje. Na gospodarstvima niskog rizika propisuje se zabrana prometa živim životinjama u trajanju od 30 dana tokom kojih se svakodnevno provodi veterinarski nadzor kliničkim pregledom svih životinja na gospodarstvu. Ovisno o ustanovljenom kliničkom nalazu provode se potrebne dijagnostičke pretrage u skladu sa pravilima struke. Ukoliko tokom 30 dana nisu ustanovljeni poremećaji zdravstvenog stanja koji bi ukazivali na zaraznu bolest promet sa i na gospodarstvu se omogućuje u skladu sa važećim zakonskim propisima (Bci i sur, 2013).

Na novim privremeni lokacijama potreban je veterinarski zdravstveni nadzor i kontrola zaraznih i parazitarних bolesti životinja. Prihvat životinja na privreme-

nim lokacijama ukoliko je to moguće treba biti načinjen prema životinjskim vrstama. Prilikom ulaska na privremenu lokaciju potrebno je izvršiti identifikaciju životinje (u mjeri u kojoj je to moguće) i načiniti trijažu s obzirom na opće zdravstveno stanje (opći klinički pregled) – odvajanje klinički zdravih od bolesnih životinja. Bolesne životinje je potrebno liječiti prema pravilima struke.

Veterinarski nadzor potrebno je provoditi svakodnevno do dobivanja daljnjih uputa od strane Ureda/Kancelarije za veterinarstvo BiH, Agencije za sigurnost hrane BiH i drugih relevantnih institucija uključenih u rješavanje ukupne problematike, misli se na nadležna entitetska Ministarstva zdravstva i poljoprivrede.

Životinje u gospodarstvima visokog rizika potrebno je pretražiti na sljedeće zarazne bolesti:

- **Goveda:** Tuberkuloza, Bruceloza, Enzootska leukoza goveda, Leptospiroza
- **Konji:** Infekciozna anemija kopitara, Leptospiroza i Groznica Zapadnog Nila
- **Ovce:** Bruceloza, Leptospiroza
- **Svinje:** Klasična svinjska kuga, Leptospiroza i (Bolest Aujeszzkoga ovisno o statusu)
- **Perad:** Influenca ptica i Newcastle-ska bolest (dokaz uzročnika)

Zbog specifičnih epidemioloških prilika, neophodno je usmjeriti posebnu pažnju tokom veterinarskog nadzora gospodarstava visokog rizika dodatno po-

svetiti pažnju otkrivanju eventualno kliničkih znakova enterotoksemije, tetanusa i botulizma (Terpstra, 2011).

Na gospodarstvima visokog rizika potrebno je imunizirati zdrave životinje protiv sljedećih bolesti (Taylor i sur., 2011) sve u skladu sa uputstvima proizvođača cjepiva:

- **Goveda:** bedrenice, šuštavca, parašustavca, bolesti sluznice goveda, zarnog rinotraheitisa goveda
- **Ovce:** enterotoksemija i bedrenica
- **Perad:** nakon načinjenih pretraga za dokaz uzročnika imunizacija protiv Newcastleške bolesti
- **Psi:** sve životinje nepoznatog statusa cijepiti protiv bjesnoće, kao i pse ukoliko je prošlo više od 1 godine od prethodnog cijepjenja
- **Konji:** bedrenice

Preporuka za pse: cijepjenje protiv leptospiroze, štenećaka, parvoviroze i razne upale jetre. *Napomena–kao preporuka vlasnicima životinja*

Preporuka za mačke: sve životinje nepoznatog statusa cijepiti protiv bjesnoće, te zarnog rinotraheitisa mačaka, panleukopenije mačaka i kalicivirusne infekcije – *Napomena- kao preporuka vlasnicima životinja*

Preduvjeti za povratak životinja na poplavljena područja:

- Životinje se ne smiju vratiti na gospodarstva na poplavljenom području prije ostvarivanja preduvjeta koji slijede:

- Izvršiti asanaciju gospodarstava i poplavljenog područja
- Prikupiti i neškodljivo ukloniti sve lešine uginulih životinja
- Lešine prikupljati na privremena odlagališta te ih svakodnevno transportirati do objekta za neškodljivo uklanjanje (zabranjeno je zakopavanje lešina)
- Očistiti i dezinficirati nastambe i prostore za životinje, opremu za držanje i hranjenje životinja, prostore za držanje i pripremu hrane za životinje
- Prikupiti ostatke stajskog gnoja koji se zatekne na gospodarstvima i terenu te dezinficirati površine na kojima se držao stajski gnoj
- Neškodljivo ukloniti proizvode i sirovine animalnog porijekla
- Provesti dezinfekciju, dezinsekciju i deratizaciju.

Obnoviti objekte za držanje životinja tako da zadovolje minimalne zoohigijenske uvjete primjerene određenoj životinjskoj vrsti i tipu proizvodnje. Nakon građevinske obnove, načiniti dezinfekciju objekta i dvokratnu dezinsekciju i deratizaciju gospodarstva prije povratka životinja na poplavljena gospodarstva. Potrebno je osigurati dovoljne količine vode za napajanje životinja. Objektivnim metodom provjeriti zdravstvenu ispravnost vode porijeklom iz privatnih izvora prije povratka životinja na gospodarstva (bunari, cisterne). Potrebno je osigurati dovoljne količine hrane porijeklom sa nepopavljenih područja u skladu sa brojem ži-

votinja koje se vraćaju na gospodarstvo. Ukoliko je na poplavljenim i ugroženim područjima zaostalo hrane za životinje nakon povlačenja vode, ne dozvoliti njeno korištenje za ishranu životinja prije provjere zdravstvene ispravnosti (objektivnim metodama) (Coulston i Deeny, 2010).

Preduvjeti koji moraju biti zadovoljeni s obzirom na označavanje i zdravstveni status životinja koje se vraćaju na gospodarstva u poplavljenom području:

Sve životinje prije vraćanja na sanirana područja prethodno moraju biti trajno označene (konji, goveda, mali preživači, svinje, psi).

Na poplavljeno područje omogućiti povratak isključivo zdravih životinja, provjerenog zdravstvenog stanja i statusa s obzirom na zarazne bolesti, sve u skladu sa naredbama, uputama i drugim direktivama relevantnih institucija.

Veterinarski zdravstveni nadzor, plan i potrebni postupci kontrole zaraznih i parazitskih bolesti za životinje nakon povratka na gospodarstva, moraju se redovno provoditi. Povratak životinja moguć je isključivo na sanirana gospodarstva na poplavnim područjima i to strogo pod stručnim veterinarskim nadzorom. Na dan dolaska životinja, započeti urgentne kliničke pretrage, kako bi se objektivno ustanovilo zdravstveno stanje. Uvesti u evidenciju sve životinje koje su vraćene na gospodarstvo i provjeriti rezultate ranijih pretraživanja na zarazne bolesti te provedenih cijepljenja kad god je to moguće.

Mjere vezane za poplave se, prema vremenu provođenja, dijele na one koje

se provode prije poplava, za vrijeme trajanja, te nakon povlačenja vode. Mjere prije poplava su građevinske, hidrotehničke, agropedološke te opće mjere za prevenciju javljanja zaraznih oboljenja (obezbjeđenje adekvatnog vodosnabdjevanja, pravilna dispozicija otpada, redovno provođenje dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije, nadzor nad proizvodnjom, prometom i distribucijom hrane i predmeta opće upotrebe). Mjere nakon poplava se usmjeravaju na sanaciju poplavljenih područja, a uključuju čišćenje svih prostora i površina, odvoz i pravilnu dispoziciju smeća, kao i sprovođenje dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije istih. Važno je uspostavljanje uslova koji funkcionalno koliko god je to moguće dovode do normalizacije života (Few 2004).

ZAKLJUČAK

- ◆ Poplave i klizišta predstavljaju najznačajniju prirodnu nesreću na našem području uz koju se vezuje veliki broj rizika po zdravlje ljudi, životinja i materijalnih dobara.
- ◆ Poznato je da poplave nose najznačajniji rizik od smrti upravo zbog utapanja.
- ◆ Ostali rizici su povrede te pojava zaraznih i nezaraznih oboljenja.
- ◆ U cilju smanjenja štetnih učinaka po zdravlje neophodno je provoditi različite preventivne mjere prije pojave poplava, za vrijeme poplava i nakon povlačenja vode.
- ◆ Samo adekvatno, to znači stručno i profesionalno provođenje svih mjera može dati zadovoljavajuće rezultate,

сманјити ризике и ублажити њихове штетне последице узроковане поплавама и насталим клизиштима.

LITERATURA

1. Huseinbašić S. (2013): Sigurnosni rizici i saradnja država Jugoistočne Evrope, Jordan studio Sarajevo
2. Mills D. M. (2009): „Climate change, extreme wether events, and us health impacts: What can we say“, J. Occup EnvironMed. Jan, vol. 51, no. 1, 26-32.
3. Kim K. H., Kabir E., Ara jahan S. (2014): „A review of the consenquences of global climate change on human health“, J. Environ Sci Health C Environ Carcinog Exotoxicol Rev, vol. 32, no. 3, 299-318.
4. Kovats S., Haines A. (1995): „The potential health impacts of climate change: an overview“, Med War, Oct-Dec, vol 11., no.4, 168-78.
5. Patz Ja., McGeehin Ma. et al. (2000): „The potential health impacts of climate variability and change for the USA: executive summary of report of the health sector of the U.S. National Assessment“ Environhealth Perspect. Apr, vol. 108. no. 4, 367-76.
6. De Freitas C. M., Ximenes E.F. (2012): „Floods and public health: a review of the recent scientific literature on the causes, consenquences and responses to prevention and mitigation“, Cieu Saude Colect. Jtin, vol. 17, no. 6, 1601-1615.
7. Du W., FitcGerald G. J., Clark M., Hou X. Y (2010): „Health impact of floods“, Prelios Disaster Med. May-Jun, vol. 25, no. 3, 265-272.
8. UNISDR, (2006): *Words into action: implementing the Framework for action*, Geneva.
9. Greenough G., McGeehin M. et al. (2001): „The potential impacts of climate variability and change on health impacts of cxtreinc weather events in the United States“, Environ Health Perspect. May, vol. 109, Suppl. 2, 191-198.
10. Ahern M., Sari Kovats R., Wilkinson P., Few R., Mattlilies F. (2005): „Global Health Impact of floods: Epidemiological Evidence“, *Epidemiological Reviews*.
11. Ivers L. C., Pyan E.T. (2006): „Infectious diseases of severe weather-related and flood-related natural disasters“, Ciirr *Gpin Infect. Dis.* Oct, vo1. 19, no. 5, 408-414.
12. Lowe D., Ebi K1., Forsbeig B. (2013): „Factors increasing Vulnerability to health effects before, during and after floods“, Int J Environ Res Public Hea. Dec.11, vol.10, no.12, 7015-7067.
13. Kouadio I.K., Aljunid S., Kamigaki T., Hammad K., Oshitani H. (2012): „Infectious diseases following natural disasters: prevention and control measures“. *Exyect Rev v Anti Infect Ther.* Jan, vo1. 10, no. 1, 95-104.
14. Diaz J.H. (2014,„): Superficial and invasive infections following floo cling disasters“, *Am J Disaster Med* Summer, vol. 9, no. 3, 171-151. dci: 10.5055/ajdm.2014.0169.
15. Agrawal S., Gopalakrisluian S. (2013): „Risk factors for injurics in landslide- and flood-affctcd populations in Uganda“, vol. 25, no. 4, 314-321.

- doi: 10.1017/51049023X13000356. Epub 2013 Jun 10. HYPERLINK <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gopalakrishnan%20T7%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthoruid=23746361>, T, Gorokhov, Y, Doocy HYPERLINK [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Doocy%20\(S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthoruid=23746361](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Doocy%20(S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthoruid=23746361)
16. Janev Holcer N., Jelić P., Grba Bujević M., Vazanic D. (2014): „Health protection and risks for rescuers in cases of floods”, *Arli Hig Rcida Toxikol.* 66.
 17. Alderman K., Turner L. S., Teng S. (2012): „Floods and human health: a systematic review”, *EnvirYotlInt.* Oct 15, vol. 47, 37–47.
 18. Ban H., Li Jeml. (2010): „Study on effect of 3 popes of drinking water emergent disinfection models in flood/waterlog areas, *Wei Sheng Yan Jiu.* Sep, vol. 39, no. 5, 577–579.
 19. Drandt M., Brown C. et al. (2006): „Mold prevention strategies and possible health effects in the aftermath of hurricanes and major floods, *MMWR RecRey.* Jun 9, vol. 55, no. RR-8, 1–27.
 20. Chen J.R., Tsai H.Y., Hsu P.C., Shen C.C., (2007): „Estimation of waste generation from floods”, *Waste Manag.*, vol. 27, no. 12, 1717–1724. Epub 2006 Dec 12.
 21. Bci B., Dryant C., Gilson K.M. et al. (2013): «A prospective study of the impact of floods on the mental and physical health of older adults”, *Ageing Ment Health*, vol. 17, no. b, 992–1002.
 22. Terpstra T. (2011): „Emotions, trust, and perceived risk: affective”, *Risk Anal* Oct, vol 1, no. 10, 1658–1675. doi: 10.1111/j. 1539-6924.2011.01616.x. Epub Apr 7.
 23. Taylor J., Lai K. M et ml. (2011): „Flood management: prediction of microbial contamination in large-scale floods in urban environments”, *Environ HYPERLINK "http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21481472" Int.* Jul, vol. 37, no. 5, 1019–1029. doi: 10.1016/j.envint.2011.03.015. Epub 2011 Ar r9.
 24. Coulston J. E., Deeny P. (2010): „Prior exposure to major flooding increases individual preparedenss in high-risk populations”, *Prehosp HYPERLINK "http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20845312" Disaster Med.* Jul-Aug, vol. 25, no. 4, 289–295.
 25. Few R., Ahern M., Matthics F., Kovats S. (2004): *Floods, health and climate change: a strategic review*, Tyndall Center for Climatc Changc Reasearch.

Rad primljen: 8.5.2017.

Rad prihvaćen: 11.9.2017.





DOI: 10.7251/VETJ1701081P

UDK: 637.524.053

Biljana Pećanac^{1*}, Radan Tomić², Jelena Janjić³, Jelena Ćirić³, Branislav Baltić⁴, Slaven Grbić⁵, Milan Ž. Baltić³

Stručni rad

ČAJNA KOBASICA–BEZBEDNOST I KVALITET

Kratak sadržaj

Čajna kobasica je verovatno najzastupljenija kobasica iz grupe fermentisanih (sirovih) kobasica na tržištu republika bivše SFR Jugoslavije. S obzirom na to da se nađev ove kobasice puni u creva užeg dijametra, proizvodni proces nije dug i omogućava proizvođačima brz obrt uloženog kapitala. Kobasica je jedinstvenog, blagog ukusa, dobro i lako se narezuje i prihvatljiva je za većinu potrošača. U radu su prikazane najčešće biološke i hemijske opasnosti koje se vezuju za ovu vrstu kobasice kao i pokazatelji kvaliteta ove kobasice koji su definisani propisima.

Ključne reči: *fermentisane kobasice, parametri kvaliteta, biološke opasnosti, hemijske opasnosti*

DOI: 10.7251/VETJ1701081P

UDK: 637.524.053

Biljana Pećanac, Radan Tomić, Jelena Janjić, Jelena Ćirić, Branislav Baltić, Slaven Grbić, Milan Ž. Baltić*

Professional Paper

TEA SAUSAGE–SAFETY AND QUALITY

Abstract

Tea sausage is probably the most common sausage from the group of fermented (raw) sausages on the market in the republics of former Yugoslavia. Since the filling

¹ dr Biljana Pećanac; Veterinarski institut Republike Srpske „Dr Vaso Butozan”, Banja Luka

² Radan Tomić; Veterinarska stanica „Tomić”, Karakaj bb, Zvornik

³ dr Jelena Janjić; dr Jelena Ćirić; dr Milan Ž. Baltić; Fakultet veterinarske medicine, Beograd

⁴ Branislav Baltić; Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

⁵ dr Slaven Grbić; Veterinarski zavod „Slaven d.o.o.”, Banja Luka

* Korespondentni autor: biljana.pecanac@virs-vb.com

* dr Biljana Pećanac; PI Veterinary Institute of Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan”, Banja Luka

Radan Tomić; Veterinary Station „Tomić”, Zvornik

dr Jelena Janjić; dr Jelena Ćirić; dr Milan Ž. Baltić; Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade

Branislav Baltić; Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade

dr Slaven Grbić; Veterinary institute „Slaven d.o.o.”, Banja Luka

Corresponding author: biljana.pecanac@virs-vb.com

of the sausage is stuffed into the casings of narrow diameter, the production process is not long and allow the manufacturers a quick turnover of invested capital. Tea sausage has a unique, mild taste, it has good cutting and slicing characteristics and it is acceptable to most consumers. The paper describes the most common biological and chemical hazards that are associated with this type of sausage and the sausage quality indicators defined by regulations.

Keywords: *fermented sausages, quality parameters, biological hazards, chemical hazards*

UVOD

Proizvodi od mesa nastali su kao rezultat potrebe konzervisanja mesa još u Starom veku. Tako se za izradu fermentisanih kobasica zna još od toga vremena. Tu vrstu proizvoda od mesa poznavali su stari Grci, Rimljani, a pominju se i u nekim vavilonskim zapisima. Prerada mesa potiče od potrebe da se meso konzervira. Stari Rimljani su teritorije tada poznatog „Starog sveta“ osvojili, između ostalog, i time što su poznavali konzervisanje mesa (sušena šunka i fermentisane kobasice), pa su ti proizvodi bez opasnosti od kvara bili izvor snabdevanja hranom animalnog porekla. Tehnologija konzervisanja, zasnovana na snižavanju a_w vrednosti kombinovana sa snižavanjem i pH vrednosti može da se smatra najstarijim postupkom konzervisanja mesa. Suvomesnati proizvodi proizvodili su se sušenjem na vazduhu, a_w vrednost smanjivala se i soljenjem, bilo da se radilo o vlažnom ili suvom soljenju. I kod fermentisanih proizvoda korišćeno je soljenje uglavnom u cilju sprečavanja rasta bakterija. Malo se znalo o samom procesu fermentacije, prodiranja soli u meso i sušenju. Prerada mesa posmatrala se kao umetnost, ve-

ština (Vendendriessche, 2008). U antička vremena dimljenje je bilo dodatni postupak konzervisanja, naročito značajno za površinski kvar (plesni). Dimljenju se dakle više pridaje značaj kao postupku koji doprinosi prihvatljivijem mirisu i ukusu.

ČAJNA KOBASICA–ISTORIJSKI OSVRT

Naziv „čajna“ kobasica potiče od nemačke reči „tee wurst“ koji se odnosi na kobasicu čija proizvodnja datira iz polovine 19. veka u gradu Rügenwaldu na obali Baltika, u Pomeraniji, koji danas (od 1945. godine) pripada Poljskoj, pa i sam grad ima drugi naziv (Darlowo). Ova kobasica pripremana je od svinjskog mesa i čvrstog masnog tkiva svinja, a punjena je u svinjska tanka creva. Posle brzog i kratkog zrenja narezivana je i koristila se za pripremu sendviča koji su konzumirani uz čaj, i otuda naziv „čajna“. Nemci su tehnologiju izrade ove vrste kobasice preneli posle 1945. godine u Donju Saksoniju i danas je ova vrsta kobasice u Nemačkoj zaštićena imenom porekla. Oni koji nisu nosioci ove zaštite, mogu da stavljaju u promet čajnu kobasicu tako da uz na-

ziv „čajna“ dodaju reč „kao“ ili da nekom drugom dodatom rečju deklariraju ovaj proizvod. Na našim prostorima pogrešno se ime „čajna“ vezivalo za Kinu jer se na engleskom jeziku Kina označava kao „China“ (izgovara 'tʃaɪnə). Još veću grešku činili su oni koji su pokušavali da naziv „čajna“ vežu za industriju mesa Čajetine (Zlatibor, Srbija). Čajna kobasica pripada brzo fermentisanim kobasicama i njena proizvodnja na prostoru bivše SFR Jugoslavije počela je pre nešto više od 50 godina u tadašnjem „Mesoprometu“ u Zemunu. Od tada proizvodnja ove vrste kobasica proširena je na prostor cele SFRJ. Za čajnu kobasicu se može reći da je u velikoj meri vezana za industrijsku proizvodnju, za razliku od npr. sremske kobasice, čija proizvodnja je zastupljena i u industrijskoj i u tradicionalnoj proizvodnji (proizvodnja u domaćinstvima) (Baltić i sar., 2011). U „Mesoprometu“ u Zemunu za proizvodnju čajne kobasice korišćeno je isključivo zamrznuto goveđe (junče) meso I kategorije i čvrsto masno tkivo svinja. Ovoj sirovini su u toku dalje obrade dodavani kuhinjska so (2.8%), natrijum nitrit (0.15%), beli biber (0.3%), beli luk (0.2%) i glukono-delta-lakton (GDL) (0.3%). Od ove prvobitne recepture, koja ne odgovara izboru mesa po nemačkoj recepturi, vremenom se sasvim odstupilo. Danas se ova vrsta kobasica proizvodi od goveđeg i svinjskog mesa ili mešavine ove dve vrste mesa u različitim odnosima i čvrstog masnog tkiva svinja, kao i dodataka (nitritna so, strukturni sojini proteini, začini, starter kulture, askorbinska kiselina, šećeri, retko GDL), tako da je i kvalitet čajne kobasice na tržištu veoma varijabi-

lan između različitih proizvođača, pa čak postoje razlike između proizvodnih partijsa istog proizvođača. Ovo znači da kvalitet ovog proizvoda na tržištu nije standardan. Inače, od grupe fermentisanih kobasica, čajna kobasica je, verovatno, najzastupljeniji proizvod na tržištu Republike Srpske i Srbije. Za ovaj proizvod se može reći da je prihvatljiv za većinu stanovništva, jer ga karakteriše privlačan spoljašnji izgled (ujednačeni i prepoznatljivi dužina i prečnik), karakterističan mozaik, dobra sposobnost narezivanja i prijatan i blag miris i ukus (ima optimalnu slanost i nije suviše začinjena).

KVALITET ČAJNE KOBASICE PREMA PRAVILNIKU

Prema Pravniku o usitnjenom mesu, poluproizvodima i proizvodima od mesa (Sl. glasnik RS br. 94/2015) čajna kobasica se svrstava, na osnovu sastava, tehnološkog postupka proizvodnje i načina konzervisanja, u grupu fermentisanih kobasica i podgrupu fermentisanih suvih trajnih kobasica.

Kobasice su proizvodi od različitih vrsta i količina mesa, mašinski otkoštalog mesa, iznutrica, krvi, masnog i vezivnog tkiva, različitog stepena usitjenosti i drugih dodatnih sastojaka koji se posle različitih vidova obrade, prerade i punjenja u prirodne ili veštačke omotače ili drugu ambalažu konzerviraju odgovarajućim postupcima. U slučaju da omotač nije jestiv, to mora biti označeno. Na osnovu sastava, tehnološkog postupka proizvodnje i načina konzerviranja, kobasice se mogu proizvoditi i stavljati u pro-

met kao: a) fermentisane kobasice, b) toplotno obrađene kobasice, c) kuvane kobasice, i d) sveže kobasice (Anon, 2015).

FERMENTISANE KOBASICE

Fermentisane kobasice su proizvodi od različitih vrsta mesa i čvrstog masnog tkiva domaćih papkara i kopitara prve i druge kategorije, mesa peradi prve kategorije i mesa divljači, različitog stepena usitnjenosti i dodatnih sastojaka, koji se posle punjenja u odgovarajuće prirodne ili veštačke omotače konzerviraju postupcima fermentacije i sušenja, s dimljenjem ili bez dimljenja. Na osnovu stepena sušenja i zrenja, fermentisane kobasice mogu biti: suve trajne kobasice i fermentisane polusuve kobasice.

Fermentisane kobasice su zreli i osušeni proizvodi od mesa koji sadrže maksimalno do 35% vlage. Sadržaj proteina mesa u proizvodu mora biti najmanje 20%, a relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa (sadržaj kolagena), najviše 15% ako to nije drugačije propisano ovim pravilnikom. Čuvaju se na temperaturi koju definiše proizvođač, a nareći kobasica u originalnom pakovanju na temperaturi do 7°C. Fermentisane trajne kobasice proizvode se i stavljaju u promet pod nazivom: „kulen”, „zimski salama”, „sremska kobasica”, „sudžuk”, „čajna”, a mogu se proizvoditi i druge vrste srodnih proizvoda (Anon, 2015). Kod Zavoda za intelektualnu svojinu Srbije oznakom geografskog porekla (imena) od fermentisanih kobasica zaštićeni su: Sremski kulen, Sremska domaća kobasica, Sremska salama, Požarevačka kobasica i Petrovačka kobasica. U postupku za-

štite je i Peglana kobasica (Vasilev i sar, 2016; Stevanović i sar, 2016).

Površina suvih trajnih kobasica ne sme da bude deformisana, a omotač mora dobro da prileže uz nadev. Mozaik na preseku sastavljen je od približno ujednačenih komadića mišićnog tkiva crvene boje i čvrstog masnog tkiva beličaste boje. Sastojci u nadevu su ravnomerno raspoređeni, međusobno čvrsto povezani, tako da kobasica može lako da se narezuje. Na preseccima kobasice nema šupljina ni pukotina, boja je stabilna, a aroma prijatna (Baltić, 1994).

ČAJNA KOBASICA

Čajna kobasica je proizvod od fino do srednje usitnjenog svinjskog ili goveđeg mesa, čvrstog masnog tkiva, kuhinjske soli, zamene za kuhinjsku so, aditiva, začina ili ekstrakata začina, šećera i starter kultura. Nadev za proizvod puni se u prirodne ili veštačke omotače. Sadržaj proteina mesa u proizvodu ne sme biti manji od 20%, a relativan sadržaj proteina vezivnog tkiva u proteinima mesa (sadržaj kolagena) ne sme biti veći od 15%, a pH je najmanje 5 (Anon, 2015).

U proizvodnji čajne kobasice mogu da se koriste i aditivi koji su definisani Pravilnikom, između ostalog vlakna, uključujući i inulin, omega 3 masne kiseline, vitamine, mineralne materije, ugljene hidrate, belančevinaste proizvode, mleko i proizvode od mleka, jaja i proizvode od jaja, masti i ulja biljnog porekla, hranu i proizvode biljnog porekla i želatin (Anon, 2015). U Tabeli 1. prikazani su fizičke i hemijske osobine fermentisanih kobasica

(Comi i sar., 2005). Iz podataka se uočava da je sadržaj vode prema ovom autoru veći nego što dozvoljava naš Pravilnik. Prema rezultatima Mitrović (2016), sadr-

žaj vode u čajnoj kobasici bio je 29.07%, masti 40.26%, proteina 25.49%, pepela 5.17% i NaCl 3.98%, a a_w vrednost bila je 0.9346, a pH vrednost 5.32.

Tabela 1. Fizičke i hemijske osobine fermentisanih kobasica (Comi i sar., 2005)

Parametar	SV±SD
pH	5,73±0,06
a_w	0,91±0,01
Voda	40,83±1,04
Proteini (%)	19,13±0,23
Mast (%)	35,80±0,95
Ugljeni hidrati (%)	Tragovi*
Neorganske materije (%)	4,23±0,15
NaCl (%)	3,37±0,06

* Samo u slučaju ako nisu dodati

Hemijski sastav čajne kobasice zavisi pre svega od izbora sirovine, odnosno učešća mišićnog i masnog tkiva, tj. njihovog međusobnog odnosa. U literaturi postoje brojni podaci o hemijskom sastavu fermentisanih kobasica (Pećanac, 2013; Baltić i sar., 2011; Baltić i sar., 2009; Vuković i sar., 2009; Vuković i sar., 2012; Vasilev i sar., 2010; Vasilev i sar., 2013; Radetić, 1997; Pavičić i Ostojić, 2008).

ČAJNA KOBASICA– BEZBEDNOST

Bezbednost i kvalitet hrane, pa prema tome i čajne kobasice, može da se osigura primenom današnjeg savremenog pristupa proizvodnji hrane koji se zasniva na kontroli celog proizvodnog lanca hrane, odnosno kako se to uobičajeno i jedno-

stavno kaže, kontrolom od „njive do trpeze“. To podrazumeva kontrolu u primarnoj proizvodnji, u ovom slučaju u proizvodnji hrane za životinje (ratarska proizvodnja, pre svega), i gajenju životinja (tov) namenjenih proizvodnji mesa, zatim preradi (klanična industrija – klanje životinja i obrada trupa, hlađenje i zamrzavanje, izrade proizvoda) i trećem delu lanca, odnosno distribuciji hrane (velikoprodaja i maloprodaja) (Bunčić, 2009; Đurić, 2014).

U svim ovim delovima lanca hrane neophodno je da proizvođač primenjuje određene principe (dobra proizvođačka praksa, dobra higijenska praksa, HACCP, standardne operativne procedure) da bi do potrošača, kao krajnjeg korisnika nje-

govog proizvoda, stigao bezbedan i kvalitetan proizvod. Razume se da je primena navedenih principa „pokrivena“ odgovarajućim državnim propisima, da se proizvodni proces (primarna proizvodnja i prerada), kao i distribucija moraju kontrolisati na definisani način (na primer, kontrola upotrebe antibiotika i poštovanje karenci, kontrola temperaturnih uslova, kontrola prisustva patogenih bioloških agenasa, štetnih materija itd.) (Bunčić, 2009).

Poljoprivredna proizvodnja dobrim delom se odnosi na proizvodnju hrane za životinje. To su, najčešće, proizvodi ratarstva (zelena hraniva, suva gruba hraniva, silaža, zrnasta hraniva) ili, u manjem obimu, proizvodi mlinarske industrije, industrije ulje, šećerana, pivara itd. U ishrani životinja namenjenim proizvodnji mesa osnovna žitarica je kukuruz (oko ili preko 50%), zatim soja (sačma, pogača, griz), suncokret (sačma), pšenica (mekinje), zelena i suva hraniva, silaža. Kao što hrana za ljude treba da bude bezbedna, kvalitetna, tako i hrana za životinje ne sme da ugrozi zdravlje životinja i treba da bude kvalitetna, kako bi se omogućilo maksimalno iskorišćenje genetskog potencijala životinja. Bezbednost hrane i hrane za životinje definiše se biološkim, hemijskim i fizičkim opasnostima koje mogu da ugroze zdravlje ljudi i zdravlje životinja (Marković i sar., 2010).

BIOLOŠKE OPASNOSTI

Biološke opasnosti su organizmi ili agensi biološkog porekla čije prisustvo može da načini proizvod (hranu) nepo-desnim ili opasnim za konzumaciju. Oni

su često povezani sa sirovinama od kojih se proizvod priprema. Međutim, biološke opasnosti mogu dospeti u proizvod i u toku procesa njegove obrade i prerade: iz sredine u kojoj se radi sa hranom, iz sastojaka koji se dodaju u proizvod ili od ljudi uključenih u te procese. Identifikovanje bioloških opasnosti je složen i važan zadatak koji zahteva posedovanje određenih znanja i iskustva od strane HACCP tima. Biološke opasnosti uključuju mikroorganizme (bakterije, viruse, gljivice), parazite i prione. Ovde su pomenuti samo primeri najvažnijih bioloških opasnosti koji se mogu uneti u organizam čoveka putem hrane i izazvati oboljenje, a koji su često uključeni u HACCP planove subjekata koji se bave hranom (Bunčić, 2009).

Od bioloških opasnosti u mesu goveda i svinja, pa i u sirovim kobasicama, značajne su sa visokim nivoom opasnosti salmonele i listerije, čije prisustvo u ovim kobasicama je definisano propisima (Anon, 2010). Sa visokim nivoom opasnosti je i nalaz *E. coli* kod goveđeg mesa, a nizak kod svinja. Umerena opasnost je nalaz *Yersinia enterocolitica* kod svinja, a nizak kod goveda. Smatra se takođe da je nalaz toksoplazme i trihinele umeren kod svinja, a nema ga kod goveda (*Drosinos* i sar., 2005; Ivanović, 2014; Bunčić, 2015).

Prema današnjim saznanjima, prioni kao opasnost za bezbednost hrane su relevantni primarno u industriji mesa, jer se ove proteinske partikule (bez DNK/RNK genetskog materijala) nalaze u nekim tkivima životinja (naročito u nervnom sistemu) obolelih od prenosivih spongiformnih encefalopatija („TSE“ bolesti).

Među TSE prionima, najznačajniji za bezbednost hrane su prioni koji izazivaju bovinu spongioformnu encefalopatiju (BSE) kod goveda, ali koja je dokazana kao sporadična i kod koza. Smatra se da uzročnik BSE ima zoonotski potencijal i može da dovede do slične bolesti kod čoveka (nova varijanta Creutzfeldt-Jacob bolesti, vCJD). Kao BSE kod goveda, tako i vCJD kod čoveka uvek ima fatalan ishod. Kod ovaca specifični prioni izazivaju prenosivu spongioformnu encefalopatiju („scrapie“ bolest), ali danas još nema dokaza da je ona prenosiva na ljude (Bunčić, 2009; Bunčić, 2015).

Delovi zaklanih preživara za koje postoji velika verovatnoća da bi sadržavali značajne koncentracije TSE/BSE agensa, ukoliko bi životinje bile inficirane, označavaju se kao specifični rizični materijal (SRM) i moraju se neškodljivo ukloniti na propisan način. U odgovarajućim propisima, SRM su precizno naznačeni za svaku vrstu preživara i njihove starosne kategorije.

U budućnosti na pojavu bioloških opasnosti mogu da utiču klimatske promene, nedostatak vode, povećanje cene hrane i energije, otkriće alternativnih izvora hrane i hrane za životinje, zatim opasnosti od pandemija (avijarna influenza, ebola, plavi jezik), demografske promene (migracije stanovništva), agroterorizam i nove tehnologije gajenja životinja, genetske promene samih bioloških opasnosti, upotrebe GMO hrane u ishrani životinja i ljudi (Bunčić, 2015).

Fermentacija kao postupak proizvodnje bezbedne i kvalitetne hrane ima dugu

tradiciju. Fermentisane kobasice se proizvode bez termičke obrade, a konzervišući efekat se postiže kombinacijom tri osnovna faktora, a to su: pH vrednost, mlečna kiselina i snižavanje a_w vrednosti. Ima podataka da neki patogeni kao što su *E. coli*, *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes* ne mogu u toku fermentacije (zrenja) sirovih kobasica da budu inaktivisani. Iako se fermentisane kobasice generalno smatraju bezbednom hranom, zabeležena su oboljenja ljudi posle konzumiranja ovih proizvoda. Primer za to su nalaz *Salmonella* spp. u fermentisanim kobasicama, kao i *E. coli* O:157 u sušenim kobasicama (Pećanac, 2013; Heinz and Hutzinger, 2007).

Fermentacija mesa bazira se na prisustvu BMK (bakterije mlečne kiseline) i sniženju pH vrednosti. Dodatno selekcionisane bakterijske kulture proizvode supstance, kao što su mlečna kiselina, bakteriocini, vodonik peroksid koji deluje antagonistički u odnosu na patogene mikroorganizme. Upotreba starter kultura omogućava prisustvo poželjne mikroflore, a inhibira rast nepoželjnih mikroorganizama, kao posledica fermentacije šećera u mlečnu kiselinu (Pećanac, 2013; Vandendriessche, 2008).

Kada se govori o BMK kao starter kulturama posebna pažnja poslednjih decenija posvećuje se bakteriocinima koje ove bakterije stvaraju. Brojni su bakteriocini koje proizvode BMK u toku fermentacije. Sposobnost stvaranja bakteriocina opisana je kod više bakterijskih kultura (*L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *P. acidilactici*). Dejstvo bakteriocina je do-

bro izučavano na gram pozitivnim bakterijama kao što su listerije, stafilokoke, klostridije i bacilus vrste. Gram negativne bakterije su manje osetljive na bakteriocine. Uopšteno govoreći, izučavanjem bakteriocina utvrđeno je da imaju slabiji efekat u kobasicama nego u *in vitro* sistemima, što je rezultat vezivanja bakteriocina za molekule komponente hrane, pre svega za masti, što destabilizuje delovanje proteaza i drugih enzima. Jedan od razloga njihovog slabijeg delovanja je i neravnomeran raspored u nadevu kobasica (Pećanac, 2013; Vuković i sar., 2012).

Kod starter kultura najvažnije je brzo obaranje pH vrednosti što se ne može uvek postići jer u nekim slučajevima je fermentacija spora. U takvim uslovima postoji opasnost od prisustva patogena kao što su *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes*. *S. aureus* pri sporij fermentaciji ima mogućnost razmnožavanja i stvaranja enterotoksina u toj početnoj fazi fermentacije. Opasnost od drugih bakterija se takođe pominje u literaturi u slučajevima kratkog zrenja polusuvih kobasica (kobasica za mazanje) (Leroy i sar., 2006).

Sirove fermentisane kobasice, pa i čajna kobasica, mogu se proizvoditi sa ili bez dimljenja (Čirković, 1979). Hladno dimljenje je tradicionalni način dimljenja suvomesnatih proizvoda i fermentisanih kobasica i primarno je primenjivan zbog uticaja na održivost proizvoda od mesa. Danas se koristi prvenstveno zbog uticaja na aromu i boju gotovog proizvoda, mada uticaj na održivost koji se ostvaruje dimljenjem, zahvaljujući baktericid-

nim i fungicidnim supstancama iz dima, koje inhibiraju razmnožavanje nepoželjnih bakterija i plesni na površini kobasica do koga može doći čak i pri značajno smanjenoj vlažnosti, svakako nije zanemarljiv. Dimljenje sirovih fermentisanih kobasica traje od nekoliko sati do nekoliko dana, čak nedelja u zavisnosti od dimjemetra i tipa proizvoda, a uobičajeno se sprovodi na početku zrenja kada kobasica sadrži više vode i sastojci dima lakše difunduju u nadev (Heinz and Hautzinger, 2007; Vuković, 2006; Radetić, 1997).

Za bezbednost i osobine dimljenih proizvoda od mesa značajni su fenoli, karbonilna jedinjenja (aldehidi i ketoni), organske kiseline i alkoholi, među kojima se nalazi više stotina jedinjenja. U dimu se nalaze brojne antimikrobne komponente (aldehidi, fenoli i organske kiseline i dr.) koje prolaze kroz omotač, prodiru u nadev i u njemu ispoljavaju bakteriocidno i fungicidno dejstvo (Vuković, 2006). Najviša koncentracija ovih materija se nalazi na površini kobasica i smanjuje se prema unutrašnjosti proizvoda, tako da je i antimikrobni efekat dima pretežno ograničen na površinu proizvoda. Koliko duboko će dim prodreti u nadev i koliki će biti intenzitet njegovog konzervirajućeg dejstva zavisi od svojstva omotača i karakteristika dima, a posebno od temperature i trajanja dimljenja. Produženo dimljenje sa niskim koncentracijama dima omogućuje da komponente dima dublje prodru u nadev (Savic I., Savić Z. 2002; Radetić, 1997). Fenoli imaju antioksidativno dejstvo jer stabilizuju masti i usporavaju njihovu oksidaciju. Fenoli, karbonilna (aldehidi i ketoni) i druga jedinjenja utiču na

formiranje arome, tj. specifičnog mirisa i ukusa (na dim) dimljenih proizvoda, ali i privlačne boje dimljenog mesa. Aldehidi koagulišu proteine mesa zbog čega dolazi do očvršćavanja površinskog sloja kobasica, tj. omotača i formiranja čvršće konzistencije, ali i usporavanja dalje difuzije dima u kobasicu. (Heinz and Hautzinger, 2007; Vuković, 2006; Radetić, 1997).

Pored korisnih jedinjenja u dimu se nalaze i nepoželjne materije, pa čak i neka kancerogena jedinjenja od kojih je najpoznatiji benzopiren. Rezidue benzopirena mogu delovati kancerogeno, ako se unose u dovoljno visokim dozama, kroz duži period, ali se smatra da kod normalne, izbalansirane ishrane, kancerogeni rizik nije vezan za umereno dimljene namirnice, kakve su dimljeni proizvodi od mesa, pa i čajna kobasica (Heinz and Hautzinger, 2007).

HEMIJSKE OPASNOSTI

Hemijski agensi u hrani se definišu kao ostaci supstanci koje imaju farmakološko dejstvo i/ili njihovih metabolita, a koji su potencijalno opasni po zdravlje životinja i ljudi. Potencijalno, hrana može sadržavati ostatke (rezidue) mnogobrojnih hemijskih supstanci i njihov ukupan broj se meri desetinama hiljada. One uključuju hemikalije koje se koriste u poljoprivredi ili supstance koje su posledica kontaminacije životne sredine iz industrije. Takođe, u uzgoju životinja, mnoge hemijske supstance i lekovi se koriste da poboljšaju rast ili kontrolišu bolesti. Pored toga, neke hemijske supstance se dodaju u hranu u cilju poboljšanja pojedinih njenih svojstava ili da se uspori njen kvar (Marković i sar., 2010). U Tabeli 2. prikazane su hemijske opasnosti u mesu i proizvodima od mesa, kao i hrani za životinje.

Tabela 2. Hemijske opasnosti u mesu, proizvodima od mesa i hrani za životinje, izvori, nivoi opasnosti, prevencije i kontrolne mere (Marković i sar., 2010)

Hemijske opasnosti	Izvori	Nivoi opasnosti	Prevencija	Kontrolne mere
Teški metali	Životna sredina	Umeren	Izbegavanje ishrane životinja na/sa područja u blizini fabričkih postrojenja	Monitoring
Pesticidi	Sredstva za zaštitu bilja	Umeren	Kontrolisana upotreba	
Mikotoksini	Plesniva stočna hrana	Umeren do visok	Kontrola uslova skladištenja	
Antibiotici	Lečenje životinja	Visok	Kontrolisana upotreba, poštovanje karence	
Hormoni	Upotreba u ishrani životinja	Visok	Zabrana upotrebe	
Komponente dima	Dimljenje	Nizak	Temperatura dimljenja ne veća od 28 °C	
Vinil hlorig	Pakovanje	Nizak	Pakovanje kobasica sa omotačem	

Očigledno je da detekcija i kontrola ovako velikog broja hemijskih ostataka u hrani predstavlja veliki izazov, kako za industriju hrane, tako i za nadležne organe. Ove hemijske opasnosti uglavnom ne izazivaju lezije koje mogu da se uoče organoleptičkim ispitivanjima (na primer, tradicionalnim pregledom mesa). Stoga, da bi se obezbedio zahtevani nivo bezbednosti hrane i osigurali potrošači, sistem za bezbednost hrane treba da uključuje i laboratorijska ispitivanja ovih agensa. Za mnoge hemijske agense u hrani, ustanovljene su granice prihvatljivosti/neprihvatljivosti.

FIZIČKE OPASNOSTI

Fizičke opasnosti su fizički objekti ili komponente („strana tela”–staklo, drvo, metalni fragmenti, kamenje, kosti, plastika, dlake) koje se normalno ne očekuju u hrani, ali čije prisustvo može da dovede do povrede ili štetnih efekata kod ljudi u toku i nakon ingestije kontaminirane hrane (Marković i sar. 2010).

ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Nema sumnje da je čajna kobasica jedan od najzastupljenijih, ako ne i najzastupljeniji proizvod iz grupe kobasica na našem tržištu. Tome u velikoj meri doprinosi mogućnost upotrebe različitih osnovnih sirovina (različite vrste i kategorije mesa, zamrznuto meso, čvrsto masno tkivo) i dodataka (sojini proteini, šećeri, starter kulture, začini, nitritna so). Proizvodnja čajne kobasice ne traje dugo, što omogućava brz obrt uložених sredstava. Uz to, čajna kobasica je dobro prihvaćena kod potrošača. Srbija ovaj proizvod izvozi u zemlje u okruženju (Makedoni-

ja, Republika Srpska, Crna Gora), ali i u Rusku Federaciju. Ono što čajnu kobasicu karakteriše na tržištu je neujednačenost kvaliteta, što bi moglo da se izbegne propisima, odnosno bližim definisanjem količine i kvaliteta, kao i odnosa osnovnih sastojaka (meso različitih kategorija i masno tkivo), kao i bližim definisanjem hemijskih parametara kvaliteta (sadržaj vode, proteina, masti i njihov odnos u gotovom proizvodu). Standardizaciji kvaliteta doprinelo bi i definisanje dodatnih sastojaka i njihove upotrebe u čajnoj kobasici. Takođe, i definisanje sastava začinske smeše za čajnu kobasicu doprinelo bi standardizaciji čajne kobasice.

LITERATURA

1. Anon (2010): *Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerađevine, prometa*, Službeni glasnik RS, 72/2010.
2. Anon (2015): *Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa*, Službeni glasnik RS, 94/2015.
3. Baltić, M. (1994): *Kontrola namirnica*, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd.
4. Baltić, Ž. M., Baltić, T., Mitrović, R., Mitrović-Stanić, M., Popović, Lj. (2009): *Banijska kobasica – proizvod sa tradicijom. 55th International Meat Industry Conference*, Tara, 15-17. jun, 66–68.
5. Baltić Ž.M., Pećanac B., Sarić M., Mandić S., Filipović I., Đurić J., Doj-

- činović S., (2011): *Fermentisane kobasice – proizvodi sa tradicijom*, Veterinarski žurnal Republike Srpske XI, 1, 5–11.
6. Bunčić S. (2009): *Vodič za razvoj i primenu preduslovnih programa i principa HACCP u proizvodnji hrane*, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za veterinu, Republika Srbija.
7. Bunčić S. (2015): Biological Meat Safety: Challenges today and the day after tomorrow, *International 58th Meat Industry Conference "Meat Safety and Quality: Where it goes?"*, *Procedia Food Science*, 5, 26–29.
8. Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantisiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., & Cocolin, L. (2005): *Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy*, *Meat Science*, 69, 381–392.
9. Ćirković M. (1979): *Uticaј proizvodnih temperatura na mikrofloru nedimljene čajne kobasice*, Specijalistički rad, Veterinarski fakultet, Beograd.
10. Drosinos E.H., Mataragas M., Xiraphi N., Moschonas G., Gaitis F., Metaxopoulos J. (2005): *Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage*, *Meat Science*, 69, 307–317.
11. Đurić Jelena (2014): *Ispitivanje parametara higijene od značaja za bezbednost hrane u domaćinstvima*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
12. Heinz G. and Hautzinger P. (2007): *Meat processing technology for small- to medium-scale producers*, Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional office for Asia and Pacific, RAP Publication - 2007/20., Bangkok.
13. Ivanović Jelena (2014): *Ispitivanje uticaja različitih načina pakovanja na rast Yersinia enterocolitica u mesu svinja*, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
14. Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L. (2006): *Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation*. *Int J Food Microbiology* 106, (3), 270–285.
15. Marković Radmila, Petrujkić B., Šefer D. (2010): *Bezbednost hrane za životinje*, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
16. Pavičić Ž., Ostović M. (2008): *Proizvodnja kobasica u kućanstvu za vlastite potrebe*, MESO: prvi hrvatski časopis o mesu, 10, (5), 369–373.
17. Pećanac Biljana (2013): *Uticaј izbora omotaca na kvalitet tradicionalnih fermentisanih kobasica*, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Banja Luci.
18. Radetić P. (1997): *Sirove kobasice*, Izdavač: autor.

19. Savic I., Savic Z. (2002): *Sausage Casings*, (1st Edition), Victus, Vienna.
20. Stevanović Lj.J., Okanović G.Đ., Stevanović V.S., Mirilović D.M., Karabasil R.N., Pupavac R.S. (2016): *Traditional products-base for the sustainable development of Serbian animal origin products*, Food & Feed Reaserch, 43, 127–134.
21. Vandendriessche Frank (2008): *Meat products in the past, today and in the future*, Meat Science 78, (1), 104–113.
22. Vasilev D, Vuković I., Saičić S., Vasiljević N., Milanović-Stevanović M., Tubić M. (2010): *Sastav i važnije promene masti funkcionalnih fermentisanih kobasica*, Tehnologija mesa, 51, (1), 27–35.
23. Vasilev D., Saičić S., Vasiljević N. (2013): *Qualität und Nährwert von mit Inulin und Erbsenfasern als Fettgewebe-Ersatzstoffe hergestellten Rohwürsten*, Fleischwirtschaft, 93, (3), 123–127.
24. Vasilev D., Karabasil N., Dimitrijević M., Suvajdžić B. i Teodorović V. (2016): *Kvalitet proizvoda od mesa sa oznakom geografskog porekla i utvrđivanje njihove autentičnosti*, V Simpozijum - *Bezbednost i kvalitet namirnica animalnog porekla*, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 3–4. novembar, 93-106.
25. Vuković I. (2006): *Osnove tehnologije mesa*, treće izdanje, VKS, Beograd.
26. Vuković I., S. Saičić, D. Vasilev, M. Tubić, N. Vasiljević, M. Milanović-Stevanović (2009): *Neki parametri kvaliteta i nutritivna vrednost funkcionalnih fermentisanih kobasica*, Tehnologija mesa, 50, (1–2), 68–74.
27. Vuković I., D. Vasilev, S. Saičić, S. Ivanković (2012): *Ispitivanje važnijih promena u toku zrenja tradicionalne fermentisane kobasice lemeški kulen*, Tehnologija mesa, 53, (2), 140–147.

Rad primljen: 07.05.2017.

Rad одобрен: 13.09.2017.



DOI: 10.7251/VETJ1701093S

UDK: 616.988:579.842

Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić¹

Pregledni rad

MOGUĆNOST DIJAGNOSTIKE BRUCELOZE DOMAĆIH ŽIVOTINJA

Kratak sadržaj

Kada se bruceloza ustanovi u jednoj zemlji, međunarodni veterinarski propisi nameću ograničenja kretanja životinja i trgovine, što dovodi do velikih ekonomskih gubitaka. Izolacija *Brucella spp.* konvencionalnim bakteriološkim tehnikama je dugotrajna, rizična za laboratorijske radnike i niske osetljivosti zbog česte kontaminacije materijala. Negativna izolacija ne isključuje postojanje bruceloze. Najbolji rezultati do sada su dobijeni kombinovanjem metoda izolacije i PCR metode na kliničkim uzorcima. Nedostatak PCR metoda baziranih na razlici među sojevima unutar vrste stimulusao je razvoj novih tehnika „otisaka prstiju”. Podaci o sekvenci celog genoma brucela omogućili su identifikaciju i razlikovanje brucela na nivou vrste, biovara i upoređivanje sojeva što je olakšalo pronalaženje izvora infekcije. Indirektni dijagnostički testovi su zasnovani na detekciji imunskog odgovora izazvanog infekcijom. Ovi testovi pokazuju različit stepen osetljivosti i specifičnosti zavisno od brojnih varijabli, poput stepena i načina inficiranja, prisustva takozvanih „unakrsno reaktivnih bakterija” antigenski sličnih *Brucella spp.* kinetike indukovanog imunskog odgovora i prethodne vakcinacije. Imajući u vidu kinetiku nastajanja imunskog odgovora indukovanog nakon infekcije, vreme kada će se različiti testovi izvoditi ima veliki uticaj na rezultate.

Ključne reči: bruceloza, izolacija, molekularne metode, serologija

¹ Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić: Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Korespondentni autor: Natasa Stevic: e-mail: natasas@vet.bg.ac.rs

Rad je podržan sredstvima projekata Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj R. Srbije: TR31088 i TR37015

DOI: 10.7251/VETJ1701093S

UDK: 616.988:579.842

Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić*

Review paper

THE POSSIBILITY OF DIAGNOSIS OF DOMESTIC ANIMAL BRUCELLOSIS

Abstract

When brucellosis is detected in a country, international veterinary regulations impose restrictions on animal movements and trade, which result in huge economic losses. The isolation of *Brucella* spp. through conventional bacteriological techniques takes a long time, it's risky for the laboratory workers, and has low sensitivity due to the frequent contamination of materials. Negative cultures do not rule out the disease. The best results have so far been obtained by combining culture and PCR detection on clinical samples. The lack of PCR-based methods for differentiation among strains within a species stimulate the development of new techniques—"fingerprinting methods". Data on the sequence of the genome of *Brucella* enabled the identification and differentiation of *Brucella* at the level of species and biovar and comparison strains which is easier to find the source of infection. Indirect diagnostic tests are based on the detection of immune responses induced by infection. These tests show different sensitivities and specificities depending on numerous variables, such as the infection dose and route, the presence of so-called "cross-reactive bacteria" antigenically similar to *Brucella* spp., the kinetics of the induced immune response, and previous vaccination. Bearing in mind kinetics of the immune response induced after infection, the time when the different tests carried out has a major impact on the results.

Key words: *Brucellosis, isolation, molecular methods, serology*

Bruceloza je veoma stara bolest, čiji se tragovi mogu naći još u starom Egiptu, oko 1600 godina p.n.e. Jedna je od najčešćih zoonoza u svetu, sa oko 500 000 novih slučajeva oboljevanja ljudi svake go-

dine. Bruceloza na farmama dovodi i do velikih ekonomskih gubitaka usled pobačaja, rađanja slabo vitalnih mladunaca ili steriliteta. Izlučivanje brucela javlja se samo u određeno vreme, uglavnom

* Nataša Stević, Milovan Milovanović, Sonja Radojičić, Miroslav Valčić: Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Department of Infectious Animals Diseases and Diseases of Bees
Corresponding author: natasas@vet.bg.ac.rs

prilikom pobačaja, nakon koga se brucele izlučuju vaginalnim iscetkom u dugom vremenskom periodu (Carmichael i sar., 1990). Brucele se smatraju jednim od najčešćih izazivača laboratorijskih infekcija (Mohamed i sar., 2009).

Brucele su gram-negativne, fakultativno intracelularne bakterije koje mogu da inficiraju mnoge vrste životinja i čoveka. Do sada je otkriveno dvanaest vrsta u okviru roda *Brucella*: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella canis*, *Brucella neotomae*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella ceti*, *Brucella microti*, *Brucella inopinata*, *Brucella papionis* (Whatmore i sar., 2014) i *Brucella vulpis* (Scholz i sar., 2016). Klasifikacija se uglavnom zasniva na razlikama u patogenosti i primarnom domaćinu (Moreno i sar., 2002). Razlika između vrsta i između biotipova jedne vrste se vrši pomoću diferencijalnih testova zasnovanih na fenotipskim karakteristikama lipopolisaharidnih antigena (LPS), osetljivosti na boje i bakteriofage, potrebi za CO₂, stvaranju H₂S i metaboličkim osobinama (Alton i sar., 1988).

Otkrivanje prisustva bruceloze domaćih životinja u što kraćem roku je veoma važno zbog kontrole prisustva bolesti kod životinja, a indirektno i kod ljudi. Period inkubacije kod nekih jedinki može biti veoma dug, dok druge mogu ostati serološki negativne u dužem vremenskom periodu nakon infekcije. Otkrivanje prisustva bolesti kod jedne životinje dovoljan je dokaz da je bolest prisutna i kod drugih životinja koje se nalaze u kohabitaciji. Učešće veterinarskih službi, aktivna podrška

državnih institucija, edukacija vlasnika životinja, kao i brza i tačna dijagnostika uslov su za pravovremenu eradikaciju bolesti.

Dijagnostički testovi se mogu podeliti na one kojima se direktno dokazuje prisustvo uzročnika, kao što su bakteriološke metode i PCR, i na one testove koji detektuju imunski odgovor životinje na uzročnika oboljenja, odnosno otkrivaju prisustvo antitela protiv *Brucella spp.* Izolacija *Brucella spp.* ili detekcija DNK *Brucella spp.* PCR metodom su jedine metode koje omogućavaju sigurnu dijagnozu. Biotipizacija pruža vredne epizootičke informacije koje omogućavaju praćenje porekla i kretanja infekcije do njenih izvora u zemljama u kojima postoji i kruži nekoliko biovara. Međutim, kada jedan biovar ubedljivo preovlađuje, klasične dijagnostičke metode nisu od koristi jer ne dozvoljavaju diferencijaciju izolata koji pripadaju istom biovaru iste vrste. U tom kontekstu, novim metodama „otiska prstiju” kao što su analiza broja uzastopnih ponavljanja na više lokusa (MLVA – multiple locus variable number of tandem repeat analysis), koja meri broj tandem ponavljanja u datom lokusu i analiza više genskih lokusa (MLSA – multilocus sequence analysis) mogu se razlikovati izolati u okviru biovara. Ove metode dobijaju sve širi značaj i ulaze u rutinsku dijagnostiku u epizootičke svrhe (Le Fleche i sar., 2006, Maquart i sar., 2009, Whatmore i sar., 2009).

Za postavljanje dijagnoze bruceloze, izbor uzoraka zavisi od kliničkih znakova. U slučaju kliničke bruceloze, validni uzor-

ci obuhvataju pobačene fetuse ili njihove organe (želudac, slezina i pluća), posteljice, vaginalni iscedak, kolostrum, mleko, spermu i tečnosti uzorkovane iz zglobova u slučaju artritisa ili sadržaj higroma. Kada god ih je moguće uzorkovati, tkiva izbora su reproduktivni organi, limfni čvorovi, slezina i mlečna žlezda sa pripadajućim limfnim čvorovima. Za izolaciju *Brucella spp.* najčešće su u upotrebi Farrell medijum, bifazni Castaneda medijum, Thayer Martin. Ove podloge sadrže antibiotike sposobne da inhibiraju rast ostalih bakterija prisutnih u kliničkim uzorcima. Nekim *Brucella spp.* kao što je *B. abortus* potreban je CO₂ za rast, dok drugima nije (Alton i sar., 1988). Porast bakterija se može pojaviti posle 2–3 dana, ali kulture se obično smatraju negativnim posle 2–3 nedelje inkubacije (Alton i sar., 1988). Identifikacija *Brucella spp.* zasniva se na morfologiji, bojenju i metaboličkom profilu (katalaza, oksidaza i ureaza testovi) (Alton i sar., 1988). Bojenje po Stampu se često koristi i daje korisne informacije, iako ova tehnika nije specifična jer se i neke druge bakterije takođe oboje crveno. *Brucella spp.* je kokobacil, dužine 0.6–1.5 µm, i širine 0.5–0.7 µm. Obično se javljaju pojedinačno ili u grupama od dve ili više bakterija. *Brucella spp.* su gram-negativne bakterije. Izolacija *Brucella spp.* konvencionalnim bakteriološkim tehnikama je dugotrajna, rizična za laboratorijske radnike i niske osetljivosti zbog česte kontaminacije materijala. Kada je materijal kontaminiran u značajnoj meri, izolacija je neuspešna i pored primene selektivnih podloga (Carmichael i sar., 1990). Neuspehu izolacije doprinosi re-

lativno spor rast brucela u poređenju sa kontaminantima i činjenici da se brucele u ispitujućem materijalu mogu nalaziti u malom broju. Izolacija bakterija je teška jer postoji mogućnost da bakterije nisu prisutne u određenom uzorku, pogotovo ako su životinje prethodno primile antibiotiku terapiju. Takođe, prilikom izolacije veoma je važno i praktično iskustvo laboratorijskog radnika. Bakteriološka izolacija je spora, skupa i komplikovana, ali se preporučuje kada god je to moguće da bi se sa sigurnošću potvrdila dijagnoza. Negativna izolacija ne isključuje postojanje bolesti.

Biotipizacija *Brucella spp.* se vrši pomoću različitih testova, od kojih su najvažniji testovi aglutinacije sa antitelima protiv hrapavih-R ili glatkih-S LPS, osetljivost na bakteriofage, potreba za CO₂ za rast, stvaranje H₂S, rast u prisustvu baznog fuksina ili tionina i aglutinacija sa akriflavinom (Alton i sar., 1988).

Nekoliko PCR metoda je razvijeno za dijagnostiku bruceloze. Najbolje validirane metode su zasnovane na otkrivanju specifičnih sekvenci *Brucella spp.*, kao što su 16S-23S geni, IS711 insercijska sekvenca ili bcs31 gen koji kodira 31-kDa protein (Baddour i sar., 2008, Ouahrani-Bettache i sar., 1996). Za tipizaciju *Brucella spp.*, često se koristi multipleks AMOS PCR (abortus, melintensis, ovis, suis). Ovaj PCR i PCR protokoli izvedeni iz njega omogućavaju razlikovanje između *Brucella* vrsta i između vakcinalnih i divljih sojeva. Oni, međutim, ne omogućavaju razlikovanje svih biotipova datih *Brucella* vrsta (Bricker i sar., 1994, Bric-

ker 2002, Bricker i sar., 2003). Multipleks "Bruce ladder" PCR je prvi metod dizajniran da identifikuje i razlikuje sve poznate vrste *Brucella* i vakcinalne sojeve u istom testu (Garcia-Yoldi i sar., 2006). Ove tehnike su prvobitno razvijene na bakterijskim izolatima i sada se koriste za otkrivanje DNK *Brucella spp.* u kliničkim uzorcima. Zna se da metode ekstrakcije DNK utiču na osetljivost PCR testova i potrebno ih je proceniti (Dauphin i sar., 2009). PCR metode u dijagnostici bruceloze imaju nižu osetljivost od metoda izolacije bakterija, iako je njihova specifičnost blizu 100% (Bricker, 2002, Leyla i sar., 2003, Marianelli i sar., 2008). Razlog neuspeha PCR metoda u detekciji DNK brucela u kliničkim uzorcima može biti vrlo mala, nedetektabilna količina DNK u uzorcima tkiva. Osim toga, uzorci tkiva u sebi sadrže inhibitorne komponente koje ometaju PCR reakciju. Takođe, postoji i problem raspoređenosti *Brucella* tj. DNK u tkivima koja su uzorkovana. Sve nabrojano može biti razlog dobijanja lažno negativnih rezultata u PCR. Najbolji rezultati do sada su dobijeni kombinovanjem izolacije i PCR metode na kliničkim uzorcima (Leyla i sar., 2003, Marianelli i sar., 2008, Hinić i sar., 2009).

Nedostatak PCR metoda baziranih na razlici među sojevima unutar vrste stimulišao je razvoj drugih tehnika molekularne tipizacije *Brucella spp.* Nekoliko novih tehnika „otisaka prstiju“ pokazuju perspektive za razlikovanje izolata unutar istog biovara date vrste: polimorfizam jednog nukleotida koji detektuje razlike u jednom nukleotidu u DNK sekvenci pripadnika jedne vrste, MLSA koji detektuje

varijacije DNK sekvence u nizu housekeeping gena i karakteriše sojeve njihovim jedinstvenim alelnim profilima i MLVA koja analizira varijabilnost lokusa koji sadrži ponovljene sekvence (Le Fleche i sar., 2006, Maquart i sar., 2009, Whatmore i sar., 2009). Podaci o sekvenci celog genoma brucela omogućili su identifikaciju i razlikovanje brucela na nivou vrste, biovara i upoređivanje sojeva što je olakšalo pronalaženje izvora infekcije. Analiza broja uzastopnih ponavljanja na više lokusa (multiple locus variable number of tandem repeat analysis – MLVA) je metoda koja se ističe kao jednostavna, stabilna, ponovljiva i epizootiološki korisna. Dostupna je velikom broju istraživača i dobijeni rezultati se lako mogu upoređivati na međunarodnom nivou i na taj način se dobijaju važni epizootiološki podaci. Međunarodna baza podataka (<http://mlva.u-psud.fr>) je osnovana 2006. godine na Univerzitetu Paris Sud u Orsayu i zasniva se na postupku identifikacije „otisaka prstiju“. U bazi se nalaze podaci o izolatima iz različitih delova sveta. Za izvođenje MLVA se koristi neinfektivni materijal. Ova metoda se upotrebljava za dokazivanje izvora zaraze, za razlikovanje pojave nove infekcije od već postojećih, razlikovanje vakcinalnih od terenskih sojeva.

Indirektni dijagnostički testovi su zasnovani na detekciji imunskog odgovora izazvanog infekcijom. Ovi testovi pokazuju različit stepen osetljivosti i specifičnosti zavisno od brojnih varijabli, poput stepena i načina inficiranja, prisustva takozvanih „unakrsno reaktivnih bakterija“ antigeni sličnih *Brucella spp.*, ki-

netike indukovano imunoskog odgovora i prethodne vakcinacije (Saegerman i sar., 2004, Sutherland, 1984). Serologija je metoda izbora za skrining ili programe iskorenjivanja. Nakon izlaganja brucelama u organizmu životinje indukovano je jak humoralni imunski odgovor. IgG nastaju 3–4 nedelje nakon infekcije i mogu se detektovati tokom dugog vremenskog perioda (do nekoliko godina). Nasuprot tome, IgM se ubrzano indukuju, 2–3 nedelje nakon ekspozicije, i mogu nestati nakon nekoliko meseci (Saegerman i sar., 2004, Sutherland, 1984, Godfroid i sar., 2002). Čelijski posredovan imunski odgovor (indukovan 3–4 nedelje nakon izlaganja), detektovan testom preosetljivosti kože je dugotrajan i može se detektovati i nakon nekoliko godina (Saegerman i sar., 1999). Imajući u vidu kinetiku nastajanja imunoskog odgovora indukovano nakon infekcije, vreme kada će se različiti testovi izvoditi ima veliki uticaj na rezultate. Kinetika proizvodnje i nestanka glavnih izotipova imunoglobulina tokom infekcije i aktivnost ovih imunoglobulina u različitim serološkim testovima, obično omogućava razliku između akutnih i hroničnih infekcija. Istovremeno prisustvo IgM i IgG sugeriše na akutnu brucelozu, a hroničnu brucelozu karakteriše samo prisustvo IgG.

Serološka dijagnostika bruceloze obično se izvodi korišćenjem istog antigena jer su imunodominantni antigeni brucela povezani sa glatkim LPS koji deli većina vrsta brucela: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* i *B. microti*. Većina seroloških testova za dijagnostiku bruceloze još uvek nije stan-

dardizovana. *B. canis* i *B. ovis* imaju hrpav R, a ne gladak antigen čelijskog zida (Carmichael i sar., 1968). Antigen *B. ovis* se koristi i kao antigen u dijagnostici bruceloze pasa zbog njegove sličnosti sa *B. canis* i jednostavne proizvodnje (Brown i sar., 1976, George i sar., 1974). Testovi koji su u upotrebi su brzi test aglutinacije na pločici (rapid slide agglutination test – RSAT i ME-RSAT), spori test aglutinacije u epruveti (tube agglutination test – TAT), test indirektno imunofluorescence (IFA), agar gel imunodifuzioni test sa antigenima čelijskog zida (AGIDcwa), agar gel imunodifuzioni test sa citoplazmatskim antigenima (AGIDcpa), ELISA. Prisustvo antibruceloznih antitela pokazuje izloženost životinje *Brucella spp.*, ali ne ukazuje koja vrsta brucela je indukovala proizvodnju tih antitela. Serokonverzija ne znači da životinje imaju tekuću ili aktivnu infekciju u vreme uzorkovanja. Istraživanja pokazuju da skoro sve životinjske vrste osetljive na infekciju mogu izgubiti titar antitela. Titar antitela može varirati čak i tokom bakterijemije. Visina titra ne odražava fazu bolesti. To znači da stvarna prevalencija bruceloze može biti veća od one koja se utvrdi detekcijom antitela.

Prilikom izvođenja seroloških testova aglutinacije ispituje se prisustvo antigena čelijskog zida ili citoplazmatskih proteinskih antigena. Rezultati mogu biti negativni tokom prve 3–4 nedelje infekcije (Greene i Carmichael, 2006) i infekcija se može detektovati nakon ovog perioda. Ispitujući serum se meša sa suspenzijom obojenih (Rose-Bengal) i toplotom inaktivisanih *Brucella spp.* na pločici. Ako

se pojavi aglutinat test se smatra pozitivnim i dalje se sprovode precizniji testovi. RSAT se smatra veoma osetljivim (detektuje istinski inficirane životinje), ali ne i specifičnim (razlika između stvarno pozitivnih i stvarno negativnih). Retko se javljaju lažno negativne reakcije (*Flores-Castro* i sar., 1977, *Wooley* i sar., 1978), ali u čak 50–60% dolazi do lažno pozitivnih rezultata (*Brown* i sar., 1976, *Flores-Castro* i sar., 1977). Nedostatak RSAT je pojava unakrsnih reakcija sa *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Moraxella* i drugim gram negativnim bakterijama (*Carmichael*, 1979, *Carmichael*, 1976). U dijagnostici bruceloze goveda i malih preživara Rose Bengal test ponekada može dati lažno pozitivne rezultate kod vakcinisanih životinja. I pored toga ovaj test je dobar skrining test za otkrivanje inficiranih stada ili kao test kojim će se isključiti prisustvo infekcije u zapatima slobodnim od bruceloze (OIE, 2016).

Modifikovana metoda RSAT (ME - RSAT) podrazumeva dodatak 2-merkaptoetanola (2-ME) u cilju inaktivacije nespecifičnih IgM i povećanja specifičnosti testa. ME-RSAT je skrining test i koristan je kao sledeći korak u testiranju seruma koji su se pokazali kao RSAT pozitivni (*Badaksh* i sar., 1982). Životinje mogu biti pozitivne 30 meseci nakon što je bakterijemija prošla, mada se lažno negativne reakcije mogu javiti tokom prvih 8 nedelja od početka infekcije.

Testom spore aglutinacije u epruveti (TAT) detektuju se antitela protiv *B. canis* kod pasa koji su bili pozitivni na RSAT ili ME-RSAT. Test je pozitivan kod životi-

nja 2–4 nedelje nakon infekcije. Različita razblaženja testiranog seruma se dodaju u razblaženi antigen *B. canis*. Titar 1:200 smatra se aktivnom infekcijom (*Fredrickson* i *Barton*, 1974, *Rhoades* i *Mesfin*, 1980, *Flores-Castro* i *Carmichael*, 1977, *Henderson* i sar., 1974). Postoji dobra korelacija između visine titra 1:200 i izolacije brucela iz krvi. Životinje kod kojih se utvrdi titar antitela ispod 1:200 treba ponovo testirati 2 nedelje kasnije. Test je osetljiv, ali ne i dovoljno specifičan (lažno pozitivni rezultati).

Prilikom izvođenja agar gel imunodifuzionog testa (AGID) u agaroznom gelu se iseče sedam bunarčića, šest perifernih i jedan centralni. U periferne bunarčiće se unose ispitujući, poznati pozitivni i negativni serum, a u centralni antigen. Antitela difuzno putuju ka centru, a antigen ka njima i formiraju vidljivi oštar precipitinski luk (*Zoha* i *Carmichael*, 1982). U upotrebi su dva antigena, antigen poreklom od ćelijskog zida i citoplazmatski antigen. Test sa lipopolisaharidnim antigenom iz ćelijskog zida bakterije je manje specifičan od testa u kome se koristi unutrašnji citoplazmatski antigen. AGIDcwa je veoma osetljiv test, ali ipak se javljaju i lažno pozitivne reakcije. Pozitivan test se očekuje 8–12 nedelja od početka infekcije pa do 3 do 4 godine posle. Citoplazmatski antigen čine rastvorljivi proteini koji su ekstrahovani iz *B. canis* ili *B. abortus*. Ovaj najspecifičniji, a najmanje osetljiv antigen reaguje sa antitelima protiv *Brucella* vrsta. Test je negativan na početku infekcije. Slično kao i kod antigena ćelijskog zida, pozitivna reakcija javlja se 8–12 nedelja nakon infekcije i traje duže od 5 go-

dina. Agar gel imunodifuzioni test je često u upotrebi prilikom dijagnostikovanja infekcija izazvanih *B. ovis*. Xavier i sar. su upoređujući tri metode uočili nedostatke ovog testa koji se ogledaju u smanjenoj osetljivosti u slučaju hroničnih infekcija, kao i razlikama u kvalitetu komercijalno dostupnih antigena (Xavier i sar., 2011).

Postoje dve kategorije ELISA testova koje se koriste za dijagnostiku bruceloze, indirektna ELISA (iELISA) i kompetitivna ELISA (cELISA). Većina iELISA sadrži prečišćene glatke LPS kao antigen. Većina iELISA otkriva uglavnom IgG ili IgG podklase. Njihov glavni kvalitet je njihova visoka osetljivost, ali su osetljivi i na nespecifične reakcije kao kod infekcije *Yersinia enterocolitica* serotip O:9. Ove unakrsne reakcije u iELISA testovima dovele su do razvoja cELISA testa. O-lanac glatkih LPS *Brucella spp.* sadrži specifične epitope koje ne dele sa LPS-om *Yersinia enterocolitica* serotip O:9. Tako je korišćenjem monoklonskih antitela usmerenih protiv konkretnih epitopa na *Brucella* LPS, razvoj specifičnijih cELISA omogućen. Ovi testovi su specifični, ali manje osetljivi nego iELISA (Nielsen i sar., 1995, Weynants i sar., 1996).

Test fluorescentne polarizacije se zasniva na fizičkom principu: brzina okretanja molekula u tačnom medijumu u korelaciji je sa njegovom masom. Molekuli male veličine okreću se brže i depolarizuju polarizovan snop svetlosti više, dok se veći molekuli vrte sporije i, samim tim, depolarizuju svetlost manje. Test fluorescentne polarizacije meri stepen depolarizacije u milipolarizacionim jedinica-

ma (mP). Tokom testa, uzorci seruma se inkubiraju sa specifičnim antigenom *B. abortus* obeleženim fluorescein izotiocijanatom. U prisustvu antitela protiv *Brucella spp.*, formiraju se veliki fluorescentni kompleksi. U negativnim uzorcima, antigen ostaje slobodan. Ovi manji molekuli se brže okreću i izazivaju veću depolarizaciju svetlosti nego uzorci pozitivni na *Brucella spp.* Ovaj test može biti lako automatizovan i veoma je brz, jer nakon mešanja obeleženog antigena i seruma očitavanje je gotovo trenutno. Osetljivost testa izgleda nešto niže nego iELISA (McGiven i sar., 2003). Specifičnost varira između 98.8 i 99.0% (Greiner i sar., 2009).

Serološke metode su najčešće korišćene metode u dijagnostici bruceloze, ali usled značajnog broja lažno negativnih rezultata ističe se važnost direktnih metoda dijagnostike, poput izolacije bakterija i PCR-a, a u cilju poboljšanja dijagnostike bruceloze. U dijagnostici bruceloze serološki testovi su veoma zastupljeni uglavnom kao skrining testovi. Iako su dosta unapređeni po pitanju osetljivosti i specifičnosti i dalje imaju dosta nedostataka, a jedan od njih je nemogućnost razlikovanja vakcinisanih od obolelih jedinki. Trebalo bi uvek kao skrining uraditi neki od brzih, najjednostavnijih, a dovoljno osetljivih seroloških testova, a zatim pozitivne uzorke testirati specifičnijim testovima u cilju postavljanja konačne dijagnoze. OIE preporučuje Rose Bengal test, reakciju vezivanja komplementa, ELISA test i test fluorescentne polarizacije kao skrining testove u dijagnostici bruceloze goveda i malih preživara (OIE, 2016). Za dijagnostiku bruceloze ovaca izazvane *B.*

ovis najpouzdanije je koristiti AGID i iELISA test zajedno. Za potrebe međunarodnog transporta koristi se reakcija vezivanja komplementa jer druge metode nisu standardizovane (OIE, 2015). Zlatni standard u dijagnostici bruceloze ostaje izolacija *Brucella* spp. Molekularne metode se trenutno najviše koriste u epizootiološke svrhe, ali u skoroj budućnosti mogle bi postati rutinske tehnike u laboratorijama.

LITERATURA

1. Alton G. G., Jones L. M., Angus R. D., Verger J. M. (1988): Techniques for the brucellosis laboratory. 1st edition. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique.
2. Badaksh F. F., Carmichael L. E., Douglass J. A. (1982): Improved rapid slide agglutination test for presumptive diagnosis of canine brucellosis. *J Clin Microbiol* 15: 286–289.
3. Baddour M. M., Alkhalifa D. H. (2008): Evaluation of three polymerase chain reaction techniques for detection of *Brucella* DNA in peripheral human blood. *Can J Microbiol*. 54: 352–357.
4. Bricker B. J., Halling S. M. (1994): Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J Clin Microbiol*. 32: 2660–2666.
5. Bricker B. J. (2002): PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet Microbiol*. 90: 435–446.
6. Bricker B. J., Ewalt D. R., Olsen S. C., Jensen A. E. (2003): Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle. *J Vet Diagn Invest*. 15: 374–378.
7. Brown J., Blue J. L., Wooley R. E., Dreesen D. W., Carmichael L. E. (1976): A serologic survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and an evaluation of the slide agglutination test. *J Am Vet Med Assoc* 169: 1214–1216.
8. Carmichael L. E., Bruner D. W. (1968): Characteristics of a newly recognized species of *brucella* responsible for infectious canine abortion. *Cornell Vet* 58: 579–592.
9. Carmichael L. E. (1976): Canine brucellosis: an annotated review with selected cautionary comments. *Theor. riogenology* 6: 105–116.
10. Carmichael L. E. (1979): Brucellosis (*Brucella canis*). In: Steele JH editor. Handbook series in zoonoses, Sect. A, v.1, Boca Raton FL, CRC Press Inc. p. 185–194.
11. Carmichael L. E. (1990): In: Nielsen, K. Duncan JR., Eds. Animal brucellosis. CRC: Boca Raton; pp. 335–350
12. Dauphin L. A., Hutchins R. J., Bost L. A., Bowen M. D. (2009): Evaluation of automated and manual commercial DNA extraction methods for recovery of *Brucella* DNA from suspensions and spiked swabs. *J Clin Microbiol*. 47: 3920–3926.
13. Flores-Castro R., Carmichael L. E. (1977): Canine brucellosis: current status of methods for diagnosis and treatment. In: 27th gainses veterinary symposium. p. 17–24.
14. Fredrickson L. E., Barton C. E. (1974): A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. *J Am*

- Vet Med Assoc 165(11): 987–989.
15. Garcia-Yoldi D., Marin C. M., de Miguel M. J., Munoz P. M., Vizmanos J. L., Lopez-Goni I. (2006): Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. Clin Chem. 52: 779–781.
 16. George L. W., Carmichael L. E. (1974): A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis. Am J Vet Res 35: 905–909.
 17. Godfroid J., Saegerman C., Wellemans V., Walravens K., Letesson J. J., Tibor A., Mc Millan A., Spencer S., Sanna M., Bakker D., Pouillot R., Garin-Bastuji B. (2002): How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing. Vet Microbiol. 90: 461–477.
 18. Greene C. E., Carmichael L. E. (2006). Canine brucellosis. In: Greene CE, editor. Infectious diseases of the dog and cat. Philadelphia: WB Saunders, Co. p. 369–381.
 19. Greiner M., Verloo D., de Massis F. (2009): Meta-analytical equivalence studies on diagnostic tests for bovine brucellosis allowing assessment of a test against a group of comparative tests. Prev Vet Med. 92: 373–381.
 20. Henderson R. A., Hoerlein B. F., Kramer T. T., Meyer M. E. (1974): Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. J Am Vet Med Assoc 165: 451–455.
 21. Hinić V., Brodard I., Thomann A., Holub M., Miserez R., Abril C. (2009): IS711-based real-time PCR assay as a tool for detection of *Brucella* spp. in wild boars and comparison with bacterial isolation and serology. BMC Vet Res. 5: 22.
 22. Le Fleche P., Jacques I., Grayon M., Al Dahouk S., Bouchon P., Denoed F., Nöckler K., Neubauer H., Guilloteau L. A. and Vergnaud G. (2006): Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. BMC Microbiol. 6: 9.
 23. Leyla G., Kadri G., Umran O. (2003): Comparison of polymerase chain reaction and bacteriological culture for the diagnosis of sheep brucellosis using aborted fetus samples. Vet Microbiol. 93: 53–61.
 24. Maquart M., Le Fleche P., Foster G., Tryland M., Ramisse F., Dønne B., Al Dahouk S., Jacques I., Neubauer H., Walravens K., Godfroid J., Cloeckert A. and Vergnaud G. (2009): MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. BMC Microbiol. 9: 145.
 25. Marianelli C., Martucciello A., Tarantino M., Vecchio R., Iovane G., Galiero G. (2008): Evaluation of molecular methods for the detection of *Brucella* species in water buffalo milk. J Dairy Sci. 91: 3779–3786.
 26. McGiven J. A., Tucker J. D., Perrett L. L., Stack J. A., Brew S. D., MacMillan A. P. (2003): Validation of FPA and cELISA for the detection of antibodies to *Brucella abortus* in cattle sera and

- comparison to SAT, CFT, and iELISA. J Immunol Methods. 278: 171–178.
27. Moreno E., Cloeckaert A., Moriyon I. (2002): *Brucella* evolution and taxonomy. Vet Microbiol. 90: 209–227.
28. Nielsen K. H., Kelly L., Gall D., Nicoletti P., Kelly W. (1995): Improved competitive enzyme immunoassay for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Immunol Immunopathol. 46: 285–291.
29. OIE Terrestrial Manual 2015. Ovine epididymitis (*Brucella ovis*) http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.08_OVINE_EPID.pdf
30. OIE Terrestrial Manual 2016. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) (infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.04_BRUCELLOSIS.pdf
31. Ouahrani-Bettache S., Soubrier M. P., Liautard J. P. (1996): IS6501-anchored PCR for the detection and identification of *Brucella* species and strains. J Appl Bacteriol. 81: 154–160.
32. Rhoades H. E., Mesfin G. M. (1980): *Brucella canis* infection in a kennel. Vet Med/Small Anim Clin 595–599.
33. Saegerman C., Vo T. K., De Waele L., Gilson D., Bastin A., Dubray G., Flanagan P., Limet J. N., Letesson J. J., Godfroid J. (1999): Diagnosis of bovine brucellosis by skin test: conditions for the test and evaluation of its performance. Vet Rec. 145:214–218.
34. Saegerman C., De Waele L., Gilson D., Godfroid J., Thiange P., Michel P., Limbourg B., Vo T. K., Limet J., Letesson J. J., Berkvens D. (2004): Evaluation of three serum i-ELISAs using monoclonal antibodies and protein G as peroxidase conjugate for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Microbiol. 100: 91–105.
35. Seleem M. N., Boyle S. M., Sriranganathan N. (2010): Brucellosis: A re-emerging zoonosis. Veterinary Microbiology 140: 392–398.
36. Scholz H. C., Revilla-Fernández S., Al Dahouk S., Hammerl J. A., Zygmunt M. S., Cloeckaert A., Koylass M., Whatmore A. M., Blom J., Vergnaud G., Witte A., Aistleitner K., Hofer E. (2016): *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). Int J Syst Evol Microbiol.; 66(5): 2090–8.
37. Sutherland S. S. (1984): Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the detection of cattle infected with *Brucella abortus*. Vet Microbiol. 10: 23–32.
38. Weynants V., Gilson D., Cloeckaert A., Denoel P. A., Tibor A., Thiange P., Limet J. N., Letesson J. J. (1996): Characterization of a monoclonal antibody specific for *Brucella* smooth lipopolysaccharide and development of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay to improve the serological diagnosis of brucellosis. Clin Diagn Lab Immunol. 3: 309–314.
39. Whatmore A. M. (2009): Current understanding of the genetic diversity of *Brucella*, an expanding genus of zoonotic pathogens. Infect Genet Evol. 9: 1168–1184.
40. Whatmore A. M., Davison N., Cloec-

- kaert A., Al Dahouk S., Zygmunt M. S., Brew S.D., Perrett L.L., Koylass M.S., Vergnaud G., Quance C., Scholz H.C., Dick E.J. Jr., Hubbard G., and Schlabritz-Loutsevitch N. E. (2014): "*Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.)." *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64:4120–4128.
41. Wooley R. E., Hitchcock P. L., Blue J. L., Neumann M. A., Brown J., Shotts E. B. (1978): Isolation of *Brucella canis* from a dog seronegative for brucellosis. *J Am Vet Med Assoc* 173: 387–388.
42. Xavier M. N., Sant'Anna F. M., Silva T. M. A., Costa E. A., Moustacas V. S., Merlo F. A., Carvalho Júnior C. A., Dasso M. G., Mathias L. A., Gouveia A. M. G., Lage A. P., Santos R. L. (2011): A comparison of two agar gel immunodiffusion methods and a complement fixation test for serologic diagnosis of *Brucella ovis* infection in experimentally infected rams. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.4, p.1016–1021.
43. Zoha S. J., Carmichael L. E. (1982): Serological responses of dogs to cell wall and internal antigens of *Brucella canis*. *Vet Microbiol* 7: 35–50.

Rad primljen: 14.05.2017.

Rad одобрен: 14.09.2017.



DOI: 10.7251/VETJ1701105S

UDK: 664.037.1/.5.037:637.5`62

Danica Savanović¹, Radoslav Grujić²

Pregledni rad

PROMJENE PROTEINA U TOKU SMRZAVANJA I SKLADIŠTENJA MESA I PROIZVODA OD MESA

Sažetak

Smrzavanje je jedan od najstarijih i najčešće korištenih postupaka konzervisanja mesa. Pored brojnih prednosti korištenja ovog načina konzervisanja, postupci smrzavanja mogu negativno uticati na formiranje određenih svojstava smrznutog mesa i proizvoda od mesa. Treba naglasiti da su negativni uticaji tokom smrzavanja i skladištenja mesa skoro zanemarivi u poređenju sa pozitivnim učincima.

U toku smrzavanja i skladištenja proizvoda u smrznutom stanju, u proizvodu se odvijaju različite hemijske promjene sastojaka, koje dovode do destabilizacije proteinskih gelova i emulzija i povećanog otpuštanja vode iz proizvoda tokom odmrzavanja.

Najznačajnije promjene proteina u toku smrzavanja i skladištenja smrznutih proizvoda su denaturacija, oksidacija, kao i modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina, povećanje koncentracije karbonila. Navedene promjene povezane su sa smanjenjem funkcionalnih svojstava proteina i smanjenjem kvaliteta mesa i proizvoda od mesa nakon odmrzavanja.

U ovom radu je analizirana literatura sa ciljem da se sistematizuje znanje o promjenama proteina koje se dešavaju tokom smrzavanja i skladištenja mesa i proizvoda od mesa u smrznutom stanju i da se najnovije informacije iz ove oblasti prikažu stručnjacima u naučnim institucijama i praksi.

Ključne riječi: *proteini, prehrambeni proizvodi, smrzavanje, skladištenje*

¹ Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet Banja Luka

² Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Tehnološki fakultet Zvornik

DOI: 10.7251/VETJ1701105S

UDK: 664.037.1/.5.037:637.5`62

Danica Savanovic¹, Radoslav Grujic²*Review paper*

PROTEIN CHANGES DURING THE FREEZING AND STORAGE OF MEAT AND MEAT PRODUCTS

Abstract

Freezing is one of the oldest and most widely used meat preservation methods. Beside to the many advantages of using this preservation method, freezing processes can negatively affect the formation of certain properties of frozen meat and meat products. It should be emphasized that negative impacts during freezing and storing meat are almost negligible compared to positive effects.

During freezing and storage of frozen product, different chemical changes are carried out in the product, which results in destabilization of protein gels and emulsions and increased release of water from the product during thawing.

The most significant changes in protein during freezing and storage of frozen products are denaturation, oxidation, as well as amino acid modification, protein polymers formation, protein solubilization, increased proteolytic activity, aggregation or protein fragmentation, increased carbonyl concentration. These changes are associated with reduced functional protein properties and reduced product quality after thawing.

This paper analyzes available literature to systematize knowledge about protein changes occurring during freezing and storage of frozen meat and meat products and to present the latest information from this area to experts in scientific institutions and practices.

Key words: *proteins, food products, freezing, storage*

UVOD

Proteini predstavljaju osnovne sastojke u strukturi ćelija i tkiva biljnih i životinjskih organizama. Oni učestvuju u

mnogim za život važnim procesima. Imaju strukturnu, katalitičku, zaštitnu, transportnu, energetska i nasljednu funkciju (Pribiš, 1999), te praktično učestvuju u svim biohemijskim procesima koji

¹ University of Banja Luka, Faculty of Technology Banja Luka

² University of East Sarajevo, Faculty of Technology Zvornik

se odvijaju u ćelijama i tkivima (Štajner i Kevrešan, 2014). U svakoj ćeliji se nalazi više hiljada različitih proteina. U prehrambenim proizvodima proteini imaju značajna funkcionalna svojstva, kao što su emulgovanje, želiranje, ugušćivanje, pjenjenje, sposobnost vezanja vode i dr. Proučavanjem promjena koje se dešavaju u prehrambenim proizvodima tokom obrade sirovina na sniženim temperaturama, uočeno je da kvalitet i fizičko-hemijske osobine prehrambenih proizvoda značajno zavise od promjena koje se dešavaju na proteinima (Šamšalović, 1994).

U toku smrzavanja prehrambenih proizvoda i njihovog skladištenja u smrznutom stanju, u proizvodima se odvijaju različite hemijske reakcije, koje uzrokuju promjene sastojaka hrane. Smanjenje količine vode u tečnom stanju i povećanje koncentracije elektrolita tokom smrzavanja može dovesti do promjene strukture proteina. Poznato je da sposobnost biljnih i životinjskih tkiva da vežu vodu kao i sposobnost resorpcije vode tokom odmrzavanja zavisi od stanja proteina (Chan i sar., 2011; Wang i sar., 2013). Ako u toku smrzavanja i skladištenja proizvoda u smrznutom stanju dođe do promjene stanja proteina, tokom odmrzavanja tkivo nema sposobnost da apsorbuje svu količinu vode koja nastaje prilikom odmrzavanja kristala leda, što dovodi do neželjenog oslobađanja određene količine vode iz proizvoda i promjene izgleda i teksture proizvoda (Nesvadba, 2008).

U smrznutim proizvodima interakcije između proteina i vode se smanjuju, a intenziviraju se međusobne interakcije između proteina što dovodi do promje-

ne stanja proteina u prehrambenim proizvodima (Blond i Le Meste, 2004). Faktori koji utiču na promjenu mesa i proizvoda od mesa u toku skladištenja smrzavanjem su: brzina formiranja leda i rekristalizacija, dehidratacija, koncentracija soli, jonska sila, procesi oksidacije, promjene lipida i oslobađanje određenih ćelijskih metabolita (Zaritzky, 2008). Coggins i Chamul (2004) navode da su najznačajnije fizičko-hemijske promjene koje se javljaju tokom skladištenja smrznute hrane: oksidacija lipida, denaturacija proteina, diskoloracija proizvoda, sublimacija leda i rekristalizacija kristala leda.

DENATURACIJA PROTEINA

Nativna konformacija proteina predstavlja ravnotežu između interakcija koje se dešavaju u unutrašnjosti molekule proteina i interakcija proteina sa okolnom sredinom. Pod uticajem različitih fizičko-hemijskih agenasa može doći do narušavanja trodimenzionalne strukture i odmotavanja lanca proteina. Ova pojava je poznata kao denaturacija proteina. Ona može biti izazvana djelovanjem visokih ili niskih temperatura, zračenja, mehaničkih faktora ili djelovanjem soli teških metala, jakih kiselina i baza (Štajner i Kevrešan, 2014). Blond i Le Meste (2004) i Štajner i Kevrešan (2014) smatraju da promjene koje se dešavaju tokom smrzavanja prehrambenih proizvoda, kao što su povećanje koncentracije rastvorenih supstanci, uključujući soli i organske molekule, kao i promjene jonske sile i pH vrijednosti u preostaloj nesmrznutoj vodenoj fazi, dovode do denaturacije i drugih promjena proteina (agregacija i precipitacija).

Zaritzky (2000) denaturaciju proteina tokom smrzavanja povezuje sa formiranjem kristala leda, dehidracijom proizvoda i povećanjem koncentracije rastvorenih supstanci. On smatra da je dehidracija tkiva, uzrokovana formiranjem leda, važan faktor koji tokom smrzavanja vodi ka denaturaciji proteina. Na površini nativnih molekula proteina, koji su rastvoreni u vodenom mediju bioloških tkiva, nalaze se polarne grupe, dok su u unutrašnjosti proteina gusto raspoređene hidrofobne grupe. Oni ne stvaraju veze sa vodom i utiču na stabilnost molekule proteina u vodenim rastvorima. Tokom ekstracelularnog smrzavanja mesa dolazi do migracije molekula vode iz unutrašnjosti tkiva u međucelijske prostore, što dovodi do dehidracije i remećenja ranije uspostavljenog odnosa između proteina i vode iz rastvora. Tom prilikom dolazi do narušavanja konformacije na površini molekula proteina. U cilju održanja minimalne slobodne energije, uspostavljaju se određene interakcije između molekula proteina (protein–protein interakcije). One uglavnom imaju hidrofobni i jonski karakter. Interakcije ove vrste dovode do denaturacije proteina i formiranja proteinskih agregata (Zaritzky, 2000; Piedmonte i sar., 2007; Sun-Waterhouse i sar., 2014). Osim toga, tokom smrzavanja na proteine djeluju visoke koncentracije soli koje su zaostale u nesmrzutoj fazi. Visoka jonska sila može nadvladati postojeće elektrostatičke veze, što utiče na promjenu nativne strukture proteina (Zaritzky, 2000).

Na promjenu fizičkih i hemijskih svojstava mesa i promjenu stanja proteina to-

kom smrzavanja mogu uticati interakcije proteina sa drugim sastojcima mesa. Značajan uticaj ima djelovanje određenih enzima (Lim i sar., 2004). Oksidativni procesi tokom skladištenja smrznutih proizvoda, takođe, mogu doprinijeti denaturaciji proteina (Zaritzky, 2000). Oksidacija lipida tokom smrzavanja ima visoku korelaciju sa denaturacijom proteina. Sarma i sar. (2000) navode da su procesi oksidacije i hidrolize lipida tokom 12 sedmica skladištenja mesa sardine na -20 °C bili povezani sa smanjenjem rastvorljivosti i sposobnosti emulgovanja proteina, relativne viskoznosti rastvorljivih proteinskih ekstrakata i sposobnosti vezivanja vode, te povećanjem kala toplotne obrade.

Mnogi enzimi su aktivni i na niskim temperaturama koje se koriste za skladištenje mesa u smrznutom stanju. Oni mogu uticati na smanjenje kvaliteta smrznutih proizvoda. Visoke koncentracije sastojaka u nesmrzutoj fazi olakšavaju kontakt između enzima i substrata. Osim toga, moguće je da tokom smrzavanja/odmrzavanja dođe do ubrzanja enzimskih reakcija zbog oštećenja ćelijskih membrana (Blond i Le Meste, 2004). Enzimski procesi koji utiču na promjenu strukture molekula proteina odvijaju se brže kod sporih postupaka smrzavanja. Do maksimalnog denaturisanja proteina dolazi tokom smrzavanja mesa na temperaturama između -2 °C i -3 °C, što je posljedica kombinovanog djelovanja uslova sredine i povećanja koncentracije supstanci, do čega dolazi zbog prelaska tečne vode u led. Nesvadba (2008) je utvrdio da smanjenje količine vode u tečnom stanju

i povećanje koncentracije elektrolita tokom smrzavanja ribe i mesa vodi ka agregaciji i denaturaciji aktomiozina.

Lim i sar. (2004) navode da na denaturaciju proteina tokom smrzavanja i skladištenja mesa mogu uticati i drugi faktori (način rukovanja i obrade prije smrzavanja, temperatura skladištenja i brzina smrzavanja). Kinetika denaturacije proteina zavisi od faktora vezanih za temperature smrzavanja. Na temperaturama blizu tačke smrzavanja, denaturacija se odvija vrlo brzo. Magnussen i sar. (2008) navode da je za mnoge proteine kritična temperatura denaturacije između -2°C i -10°C . Kod nižih temperatura smrzavanja i skladištenja stepen denaturacije proteina je niži nego kod mesa koje se skladišti na temperaturama blizu tačke smrzavanja. Na stabilnost proteina utiče brzina smrzavanja. U principu, brže smrzavanje uzrokuje manja oštećenja tkiva, jer se formiraju mali kristali leda. Fluktuirajuće temperature tokom skladištenja proizvoda u smrznutom stanju mogu dovesti do rasta kristala leda a neki autori smatraju (Lim i sar., 2004) da temperatura skladištenja ima veći uticaj na denaturaciju proteina od brzine smrzavanja.

Stepen denaturacije i inaktivacije enzima mogu biti pokazatelji denaturacije proteina u prehrambenim proizvodima (Blond i Le Meste, 2004). Svako narušavanje primarne, sekundarne, tercijarne ili kvaterne strukture enzima predstavlja denaturaciju istog i gubitak dijela ili cjelokupne katalitičke sposobnosti enzima.

Denaturacija utiče na promjenu funkcionalnih osobina proteina (smanjenje

rastvorljivosti, promjena sposobnosti vezivanja vode, gubitak biološke i enzimske aktivnosti i dr). Gubitak funkcionalnih svojstava proteina u nauci o mesu i u praksi se najčešće analizira poređenjem sposobnosti vezivanja vode (SVV), sposobnosti želiranja i emulgovanja i mogućnosti stvaranja pjene. Denaturacija i gubitak funkcionalnih svojstava proteina koji nastaju tokom smrzavanja mesa utiču na povećanje kala smrzavanja. Osim toga, denaturisani proteini se lakše hidrolizuju, jer je usljed promjene konformacije polipeptidnih lanaca omogućen nesmetan pristup enzimima (Blond i Le Meste, 2004).

Denaturacija proteina tokom smrzavanja i skladištenja mesa u smrznutom stanju može se pratiti mjerenjem promjene hidrofobnosti na površini proteina, sastava aminokiselina, konformacijske stabilnosti, rastvorljivosti, agregacije i aktivnosti enzima (Totosaus, 2004).

OKSIDACIJA PROTEINA

Reakcija oksidacije proteina je definirana kao modifikacija kovalentnih veza u molekulama, koja je izazvana reakcijom proteina sa reaktivnim jedinjenjima kiseonika ili azota, te reakcijom proteina sa sekundarnim proizvodima oksidacije (Vossen i sar., 2015). Oštećenja proteina izazvana oksidacijom pod uticajem slobodnih radikala, obuhvataju seriju različitih promjena na molekulima proteina (Lund i sar., 2011). Procesi oksidacije u toku smrzavanja i skladištenja mesa u smrznutom stanju, takođe, mogu doprinijeti denaturaciji proteina. Naime, oksidansi mogu reagovati sa proteinima, pri

čemu dolazi do promjene hemijskog stanja proteina. Soyer i sar. (2010) i Wang i sar. (2013) su naveli niz promjena na molekulima proteina koje su izazvane oksidacijom: modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina, povećanje koncentracije karbonila i sl. Navedeni procesi su obično povezani sa smanjenjem funkcionalnih svojstava proteina, što dovodi do destabilizacije gelova i emulzija i povećanog otpuštanja vode iz proizvoda tokom odmrzavanja (Soyer i sar., 2010). Oksidacija proteina se objašnjava mehanizmom lančanih reakcija u kojima učestvuju slobodni radikali. Slobodni radikali oksiduju proteine ili pojedine aminokiseline. Soyer i sar. (2010) navode da se tokom skladištenja smrznutog pilećeg mesa procesi oksidacije lipida i proteina odvijaju istovremeno.

Oksidacijom proteina mogu nastati različite supstance. Koji proizvod oksidacije će nastati zavisi od vrste aminokiselina koje su uključene u proces oksidacije, kao i od načina iniciranja procesa (Lund i sar., 2011). Oksidativnim razlaganjem proteina obrazuju se peptidi čije su N-terminalne aminokiseline blokirane α -ketoacilnim proizvodima. Oksidacijom lizina, arginina, prolina i treonina mogu nastati karbonilni derivati. Reakcijom karbonilne grupe iz aminokiselina mogu nastati aldehidi (malondialdehid) i ketoni (ketoamini i ketoaldehidi). Nastali proizvodi su štetni jer mogu promijeniti konformaciju proteina, što se odražava na njihova funkcionalna svojstva (Stevanović i sar., 2012; Dalle-Donne i sar., 2003).

Oksidacija proteina može se povezati sa bilo kojim prooksidativnim faktorom (na primjer, proizvodi oksidacije lipida, slobodni radikali, hem pigmenti i oksidativni enzimi). Reakcijom između proizvoda oksidacije lipida (malonaldehida) i proteina nastaju karbonili (aldehidi i ketoni), što ukazuje na povezanost procesa oksidacije lipida i oksidacije proteina (Akhtar i sar., 2013). Procesi oksidacije proteina u mesu mogu dovesti do smanjenja kvaliteta mesa. Najuočljivije promjene se odnose na senzorna svojstva (tekstura, ukus, miris i boja proizvoda). Navedene promjene nastaju pod uticajem jakih oksidacionih sredstava. Tokom procesa oksidacije nastaju kovalentne i nekovalentne veze i formiraju se proteinski agregati. Ostale promjene na proteinima, koje su uzrokovane oksidacijom, obuhvataju: destrukciju aminokiselina, odvijanje proteinskog lanca, povećanje površinske hidrofobnosti, fragmentaciju i unakrsno povezivanje proteina. Krajnji proizvodi navedenih reakcija su različiti aldehidi i ketoni (Estévez, 2011; Leygonie i sar., 2012; Falowo i sar., 2014).

Usljed oksidacije aminokiselina koje sadrže sumpor (metionin i cistein), dolazi do umrežavanja polipeptidnih lanaca disulfidnim mostovima ili nastanka drugih sumpornih jedinjenja. Oksidacija tiolne grupe uzrokuje niz složenih reakcija koje rezultiraju formiranjem različitih proizvoda oksidacije i stvaranjem disulfidnih veza (Lund i sar., 2011).

Xia i sar. (2012) naglašavaju uticaj više ciklusa smrzavanja–odmrzavanja na oksidaciju proteina i na gubitke tokom odmrzavanja i kuvanja kao rezultat smanje-

nja SVV svinjskog mesa. Osim toga, oksidativne promjene proteina mogu dovesti do gubitka esencijalnih aminokiselina i smanjenja probavljivosti što utiče na nutritivni kvalitet mesa (Lund i sar., 2011).

Soyer i sar. (2010) su ispitivali uticaj temperature smrzavanja i trajanja smrznutog skladištenja na oksidaciju lipida i proteina u pilećem batak i pilećim grudima. Meso je smrznuto na tri različite temperature (-7 °C, -12 °C i -18 °C), a zatim skladišteno na temperaturi od -18 °C do 6 mjeseci. Dobijeni rezultati jasno pokazuju da dužina trajanja skladištenja smrznutog pilećeg mesa (batak i grudi) ima značajan uticaj na oksidaciju proteina u pilećem mesu.

UTICAJ SMRZAVANJA NA MIOFIBRILARNE PROTEINE MESA

Miozin i aktin, kao glavni kontraktivni proteini u mesu, značajni su za formiranje funkcionalnih svojstava mesa. Tokom smrzavanja nastaju agregacijske reakcije miozina, a posljedica toga jeste povećanje tvrdoće mesa i gubitak sposobnosti vezanja vode. Stabilnost i održivost mesa različitih životinjskih vrsta tokom skladištenja u smrznutom stanju, mogu se opisati svojstvima miofibrilarnih vlakana.

Obim promjena u ultrastrukтури proteina mesa zavisi od načina smrzavanja. Sporo smrzavanje uzrokuje veći gubitak vode pri odmrzavanju i izraženije smanjenje sposobnosti vezanja vode nego brzo smrzavanje. Osim toga, pri sporom smrzavanju dolazi do intenzivnijih proteolitičkih promjena i povećanja aktivnosti adenozin-trifosfataze miofibrilarnih

proteina (Jagica i sar., 2007). Smrzavanje mesa dovodi do malih, ali vidljivih promjena senzornih svojstava mesa.

Denaturacija proteina može biti posljedica procesa formiranja kristala leda i porasta koncentracije soli u mesu (Leygonie i sar., 2012). Tokom denaturacije proteina u mesu, dolazi do smanjenja količine rastvorljivih proteina i slobodnih SH-grupa u mesu (Chan i sar., 2011, Wu i sar., 2014). Denaturacija proteina se uglavnom odnosi na miozin i aktin kao glavne miofibrilarne proteine. Zbog denaturacije, posebno tokom sporih postupaka smrzavanja, dolazi do cijepanja aktinskih i miozinskih veza. Osim toga, tokom smrzavanja mesa dolazi do promjene sarkoplazmatskih proteina, albumina i globulina, kada oni postaju nerastvorljivi. Ovakva promjena je ireverzibilna, čak i kada se meso odmrzne (Sučić i sur., 2010).

Smrzavanje i odmrzavanje uzrokuju oštećenja ultrastrukture mesa, pri čemu se iz mitohondrija i lizozoma oslobađaju različiti enzimi, željezo iz hema i druge supstance, koje mogu djelovati prooksidativno i čije prisustvo može uticati na povećanje stepena oksidacije proteina. Lizin, treonin i arginin su aminokiseline koje su najčešće uključene u ove reakcije. Procesi oksidacije navedenih aminokiselina mogu uzrokovati polimerizaciju proteina ili kidanje proteinskih lanaca (Leygonie i sar., 2012). Ove aminokiseline se uglavnom nalaze u miofibrilarnim proteinima, koji čine 55–65% od ukupne količine proteina mišića i odgovorni su za većinu fizičko-hemijskih svojstva mesa.

Procesi oksidacije proteina destabilizuju proteine mesa i dovode do smanjenja sposobnosti vezivanja vode, smanjenja rastvorljivosti proteina u vodi usljed čega meso postaje žilavo (Akhtar i sar, 2013). Oksidacija miofibrilarnih proteina dovodi do agregacije i koagulacije miozina i aktina, i smanjenja međučelijskih prostora, zbog čega je sposobnost vezivanja vode smanjena. Smanjenje međučelijskih prostora uzrokuje povećanje ekstracelularnog prostora, čime se smanjuje intenzitet kapilarnih sila koje djeluju u pravcu zadržavanja vode u međučelijskim prostorima. I druge oksidativne promjene proteina utiču na smanjenje sposobnosti vezivanja vode i dovode do povećanja količine otpuštene vode (kala) (Leygonie i sar, 2012).

Tokom skladištenja mesa i proizvoda od mesa u smrznutom stanju dolazi do agregacije miofibrilarnih proteina koji se najvjerovatnije povezuju sekundarnim interakcijama i disulfidnim vezama. Usljed tendencije povećanja veličine i broja ovih agregata, proteini manje ili više gube sposobnost vezivanja vode (Blond i Le Meste, 2004). Ovo smanjenje se javlja tokom smrzavanja, jer su grupe voda-proteini zamijenjene protein-protein grupama ili drugim vezama (Zaritzky, 2000). Smatra se da su miofibrilarni proteini (uglavnom miozin i aktomiozin) najviše podložni denaturaciji, dok su sarkoplazmatski proteini nešto stabilniji (Lim i sar, 2004).

Glava molekule miozina (HMM-S1; Heavy meromyosin) je segment miozina koji je najosjetljiviji na denaturaciju to-

kom smrzavanja i skladištenja. Ostali dijelovi molekule miozina, i proteini tankih filamenata (prije svega, aktin), takodje su podložni reakciji denaturacije. Denaturacija miofibrilarnih proteina tokom smrzavanja, prije svega se može pripisati procesima odvijanja molekule miozina i okretanje hidrofobnih grupa ka površini molekule. To izaziva agregaciju proteina tokom skladištenja. Tokom smrzavanja (posebno pri sporom smrzavanju) pored denaturacije glave miozina, dolazi do smanjenja međusobnog afiniteta miozina i aktina. Denaturacija glave miozina postepeno se nastavlja i tokom skladištenja. Tokom skladištenja dolazi do denaturacije repa miozina, dok proteini tankih miofilamenata ostaju nepromijenjeni (Zaritzky, 2000).

Rosmini i sar. (2004) navode da sporo smrzavanje ima veći denaturišući uticaj na miofibrilarne proteine, jer duže izlaganje nepovoljnim pH vrijednostima i visokoj koncentraciji soli uzrokuje veću denaturaciju proteina, smanjenje sposobnosti vezivanja vode, kao i veliku količinu otpuštene tečnosti. Mehanička oštećenja mišićnih vlakana uzrokovana nastankom velikih kristala leda tokom sporog smrzavanja, doprinose navedenim promjenama.

Smatra se da tokom procesa smrzavanja najveći uticaj na denaturaciju miofibrilarnih proteina imaju sporo smrzavanje i dugotrajno skladištenja na višim temperaturama (Perez-Chabela i Mateo – Oyague, 2004), međutim, mehanizmi denaturacije proteina i druge promjene u smrznutom mesu, kao i njihov stvarni uticaj na kvalitet mesa još uvijek nisu u

potpunosti razjašnjeni. U literaturi se navodi da su sarkoplazmatski proteini (uključujući i mioglobin) podložniji denaturaciji na niskim temperaturama smrzavanja i skladištenja nego miofibrilarni proteini (Perez-Alvarez i sar., 2004).

PROMJENE SENZORNIH OSOBINA SMRZNUTOG MESA I PROIZVODA OD MESA POVEZANE SA PROTEINIMA

Aromatske materije u mesu i proizvodima od mesa nastaju sinergističkim djelovanjem komponenti nosioca mirisa i ukusa. Miris i ukus proizvoda određuju hemijski spojevi različite strukture, kao što su ugljeni hidrati, aminokiseline, proteini, lipidi, kiseline, soli i drugi spojevi prisutni u hrani (Ponce-Alquicira, 2004).

Kako navodi Ponce-Alquicira (2004) promjene ukusa mesa i proizvoda od mesa mogu biti izazvane različitim reakcijama proteina i aromatskih jedinjenja (*van der Valsve* interakcije, kovalentne ili elektrostatičke veze proteina sa solima, amidima, estrima i reakcije kondenzacije aldehida sa NH_2 - i SH- grupama proteina). Specifična distribucija i položaj hidrofilnih i hidrofobnih grupa u molekuli proteinima određuju oblik i funkcionalnost proteina i način vezivanja isparljivih aromatskih spojeva. Ove promjene na proteinima mogu biti uzrok promjene senzornih svojstava proizvoda, a prije svega ukusa, mirisa i arome (Ponce-Alquicira, 2004).

U formiranju ukusa i arome termički obrađenih proizvoda od mesa značajnu ulogu imaju sumporna jedinjenja (Yu

i sar., 2012; Jayasena i sar., 2013). Ireverzibilno vezivanje ovih spojeva u proizvodima dovodi do smanjenja njihove koncentracije, što se manifestuje promjenom percepcije ukusa hrane. Adams i sar. (2001) navode da denaturisani proteini ireverzibilno vežu aromatična sumporna jedinjenja interakcijama sulfhidrilnih grupa proteina i disulfida, pri čemu su disulfidi, koji sadrže alil ili furfuril grupe, mnogo reaktivniji nego zasićeni alkil disulfidi. Isti autori navode da reakcije između disulfida aromatskih jedinjenja i proteina albumina rezultiraju gubitkom disulfida i formiranjem slobodnih tiola.

Slobodne masne kiseline, nastale hidrolizom masti, mogu reagovati sa proteinima, što dovodi do smanjenja rastvorljivosti proteina (Ponce-Alquicira, 2004). Osim toga, slobodni radikali nastali oksidacijom masti, mogu privući vodonik iz sulfhidrilne (SH-) grupe formirajući protein-slobodne radikale, koji u interakciji s drugim proteinima ili lipidima formiraju protein-protein ili protein-lipid agregate (Ponce-Alquicira, 2004). Pored toga, produkti sekundarne oksidacije lipida kao što su malonaldehid, propanal i hexanal mogu formirati kovalentne veze sa bočnim lancima aminokiselina histidina, metionina, cisteina i lizina. Ove interakcije povećavaju hidrofobnost proteina i mogu smanjiti sposobnost proteina da vežu aromatične supstance (Ponce-Alquicira, 2004).

Međutim, bez obzira na mnoge prednosti, smrzavanje može uticati na razvoj određenih nepovoljnih promjena u kvalitetu proizvoda. Pretvaranje velike količi-

ne vode u led, uz istovremeni porast koncentracije rastvorenih supstanci i povećanje jonske sile u nesmrzutoj fazi, uzrokuje promjenu strukture tkiva, djelimičnu denaturaciju proteina, smanjenje njihove rastvorljivosti i smanjenje sposobnosti želiranja (Coggins i Chamul, 2004). Denaturisani proteini gube sposobnost vezivanja vode što tokom odmrzavanja proizvoda dovodi do otpuštanja velike količine tečnosti. Pored velikih ekonomskih gubitaka, to uzrokuje formiranje nepoželjnih senzornih karakteristika proizvoda. Ove promjene se prije svega odnose na izgled proizvoda (Coggins i Chamul, 2004). Procesi oksidacije tokom skladištenja mesa su povezani sa promjenom boje mesa (Blond i Le Meste, 2004).

Senzorna svojstva, a naročito tekstura mesa, nakon odmrzavanja zavise prvenstveno od promjene miofibrilarnih proteina i proteina vezivnog tkiva (denaturacija, umrežavanje, povezivanje proteina sa slobodnim masnim kiselinama ili produktima autooksidacije lipida i sl.). Te promjene utiču na funkcionalna svojstva proteina (SVV, viskoznost, želiranje, emulgovanje, pjenjenje i mućenje) tokom procesa smrzavanja i odmrzavanja (Perez-Chabela i Mateo-Oyague, 2004). Tokom smrzavanja proteini mesa su podložni denaturaciji i gube svoja funkcionalna svojstva (Gonzalez-Mendez i sar., 2004). Rowe i sar. (2004) navode da usljed oksidacije sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina 24 h *post mortem* dolazi do smanjenja nježnosti goveđeg mesa.

Huff-Lonergan i Lonergan (2005) navode da smanjena proteolitička aktiv-

nost enzima i umrežavanje proteina mesa mogu negativno uticati na sposobnost vezivanja vode i sočnost mesa. Rekristalizacija leda tokom skladištenja proizvoda u smrznutom stanju, faktor je koji dodatno podstiče denaturaciju proteina, promjenu teksture i smanjenje SVV mesa. Više temperature, a posebno fluktuacija temperature, utiču negativno na promjenu teksture. Način odmrzavanja takođe može uticati na teksturu proizvoda nakon odmrzavanja (Kerr, 2004).

Posljedice oksidacije proteina mesa se povezuju sa promjenama rastvorljivosti i funkcionalnosti proteina kao što su svojstva želiranja, emulgovanja i sposobnosti vezivanja vode (Lund i sar., 2011). Smanjenje SVV mesa usljed oksidacije proteina mesa uzrokuje gubitak mase tokom termičke obrade, što može dovesti do smanjenja sočnosti mesa.

ZAKLJUČAK

Smrzavanje mesa, kao metoda konzervisanja, ima brojne prednosti u očuvanju svojstava mesa. Poređenjem sa ostalim postupcima konzerviranja, smrzavanje omogućava da se najbolje očuvaju nutritivno vrijedni sastojci mesa. Međutim, istraživanja posljednjih decenija su pokazala da se ipak u toku smrzavanja dešavaju određene promjene u strukturi mesa i, kao posljedica toga, dolazi do promjene svojstava smrznutog mesa i proizvoda od mesa.

Najznačajnije promjene proteina u toku smrzavanja i skladištenja smrznutog mesa su denaturacija, oksidacija, modifikacija aminokiselinskog lanca, formiranje

proteinskih polimera, smanjenje rastvorljivosti proteina, povećanje proteolitičke aktivnosti, agregacija ili fragmentacija proteina kao i povećanje koncentracije karbonila. Navedene promjene uzrokuju smanjenje funkcionalnih svojstava proteina i utiču na smanjenje kvaliteta mesa nakon odmrzavanja.

LITERATURA

- Adams R. L., Mottram D. S., Parker J. K., Brown H. M. (2001): Flavor-protein binding: disulfide interchange reactions between ovalbumin and volatile disulfides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4333–4336.
- Akhtar S., Khan M. I., Faiz F. (2013): Effect of Thawing on Frozen Meat Quality: A comprehensive Review. *Pakistan Journal of Food Sciences* 23: 198–211.
- Blond G., Le Meste M. (2004): Principles of Frozen Storage. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*: 25–53.
- Chan J. T.Y., Omana D. A., Betti M. (2011): Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry* 127: 109–117.
- Coggins P.C., Chamul R. S. (2004): Food Sensory Attributes. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R. (2003): Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta* 329: 23–38.
- Devappa R. K., Makkar H. P. S., Becker K. (2010): Nutritional, Biochemical, and Pharmaceutical Potential of Proteins and Peptides from *Jatropha*: Review. *J. Agric. Food Chemistry* 58: 6543–6555.
- Estévez M. (2011): Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* 89: 259–279.
- Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V. (2014): Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 64:171–181.
- Gonzalez-Mendez N. F., Aleman-Escobedo J. F., Zamorano-Garcia L., Camou-Arriola J. P. (2004): Frozen Muscle Foods: Principles, Quality, and Shelf Life. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
- Huff-Lonergan E., Lonergan S. M. (2005): Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science* 71: 194–204.
- Jagica M., Zdolec N., Cvrtila Ž., Filipović I., Hadžiosmanović M., Kozačinski L. (2007): Kakvoća smrznutog mesa peradi. *Meso*, Vol. IX, br. 5
- Jašić M. (2007): Tehnologija voća i povrća, Tehnološki fakultet Tuzla.
- Jayasena D. D., Ahn D. U., Nam K. C., Jo C. (2013): Flavour Chemistry of Chicken Meat: A Review. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26:732–742.
- Kerr W. L. (2004): Texture in Frozen Foods. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.

16. Leygonie C., Britz T.J., Hoffman L.C. (2012): Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science* 91: 93–98.
17. Lim M. H., McFetridge J. E., Liesebach J. (2004): Frozen Food Components and Chemical Reactions. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
18. Lund M. N., Heinonen M., Baron C. P., Estevez M. (2011): Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition&Food Research* 55: 83–95.
19. Magnussen O. M., Hemmingsen A. K.T., Hardarsson V., Nordtvedt T. S., Eikevik T. M. (2008): Freezing of Fish. In: Evans J. (ed). *Frozen Food Science and Technology*.
20. Meziani, S., Jasniewski, J., Ribotta, P., Arab-Tehrany, E., Muller, J.-M., Ghoul, M., Desobry, S. (2012a): Influence of yeast and frozen storage on rheological, structural and microbial quality of frozen sweet dough. *Journal of Food Engineering* 109: 538–544.
21. Meziani S., Kaci M., Jacquot M., Jasniewski J., Ribotta P., Muller J.-M., Ghoul M., Desobry S. (2012b): Effect of freezing treatments and yeast amount on sensory and physical properties of sweet bakery products. *Journal of Food Engineering* 111: 336–342.
22. Nesvadba P. (2008): Thermal Properties and Ice Crystal Development in Frozen Foods. In: Evans J. (ed). *Frozen Food Science and Technology*: 1–25.
23. Piedmonte D.M., Summers C., McAuley A., Karamujic L., Ratnaswam G. (2007): Sorbitol Crystallization Can Lead to Protein Aggregation in Frozen Protein Formulations. *Pharmaceutical Research*, 24(1).
24. Perez-Alvarez J.A., Fernandez-Lopez J., Rosmini M.R. (2004): Chemical and Physical Aspects of Color in Frozen Muscle-Based Foods, In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
25. Perez-Chabela M.L., Mateo – Oyague J. (2004): Frozen Meat: Quality and Shelf Life. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
26. Ponce-Alquicira E. (2004): Flavor of Frozen Foods. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
27. Pribiš V. (1999): *Nutritivne osobine hrane*, Novi Sad, Tehnološki fakultet, Univerzitetski udžbenik.
28. Rosmini M.R., Perez-Alvarez J.A., Fernandez-Lopez J. (2004): Operational Processes for Frozen Red Meat. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
29. Rowe L.J., Maddock K.R., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E. (2004): Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of milli-calpain. *Journal of Animal Science* 82: 3254–3266.
30. Sarma J., Reddy G.V.S., Srikar L.N. (2000): Effect of frozen storage on lipids and functional properties of proteins of dressed Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*). *Food Research*

- International 33: 815–820.
31. Soyer A., Ozalp B., Dalmis U., Bilgin V. (2010): Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry* 120: 1025–1030.
32. Stevanović J., Borozan S., Božić T., Jović S., Đekić T., Dimitrijević B. (2012): Oksidativni stres. *Vet. glasnik* 66 : 273–283.
33. Sučić R., Cvrtila Ž., Njari B., Kozačinski L. (2010). Senzorne, kemijske i mikrobiološke promjene u smrznutom mesu peradi. *Meso*, Vol. XII, broj 6.
34. Sun-Waterhouse D., Zhao M., Waterhouse G. I. N. (2014): Protein modification during ingredient preparation and food processing: approaches to improve food processability and nutrition. *Food Bioprocess Technology* 7: 1853–1893.
35. Šamšalović S. (1994): Tehnologija hlađenja i smrzavanja hrane, Savez mašinskih i elektrotehničkih inženjera i tehničara Srbije, Beograd.
36. Šimurina O., Filipčev, B. (2012): Zamrzavanje u pekarskoj industriji, Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije Novi Sad.
37. Štajner, D., Kevrešan S. (2014): Hemi-ja, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni Fakultet.
38. Totosaus A. (2004): Frozen Meat: Packaging and Quality Control. In: Hui Y. H., Legarretta I. G., Lim M. H., Murrell K.D., Nip W.-K. (Eds). *Handbook of Frozen Foods*.
39. Vereš M. (2004): Principi konzervisanja namirnica, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
40. Vossen E., De Smet S. (2015): Protein Oxidation and Protein Nitration Influenced by Sodium Nitrite in Two Different Meat Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 2550–2556.
41. Vračar Lj. (2012): Tehnologija zamrzavanja voća, Tehnološki fakultet Novi Sad.
42. Wadhwa A.A., Jadhav A.I., Arsul V.A. (2014): Plant Proteins Applications: A Review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 3, Issue 3.
43. Wang H., Wu J., Betti M. (2013): Chemical, rheological and surface morphologic characterisation of spenthen proteins extracted by pH-shift processing with or without the presence of cryoprotectants. *Food Chemistry* 139: 710–719.
44. Wu S., Pan S., Wang H. (2014): Effect of trehalose on Lateolabrax japonicus myofibrillar protein during frozen storage. *Food Chemistry* 160: 281–285.
45. Xia X., Kong B., Liu J., Diao X., Liu Q. (2012): Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle. *LWT-Food Science and Technology* 46: 280–286.
46. Yu A.-N. Tan Z.-W., Wang F.-S. (2012): Mechanism of formation of sulphur aroma compounds from L-ascorbic acid and L-cysteine during the Maillard reaction. *Food Chemistry* 132: 1316–1323.

47. Zaritzky N. E. (2000): Factors affecting the stability of frozen foods. In: C.J. Kennedy, ed. Managing Frozen Foods. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited: 111–135.
48. Zaritzky N. E. (2008): Frozen Storage. In: J. Evans, ed. Frozen Food Science and Technology. Blackwell Publishing Ltd: Oxford, UK, 224–247: 224–247.
49. Zhao, L., Li, L., Liu, G., Chen, L., Liu, X., Zhu, J., Li, B. (2013): Effect of freeze-thaw cycles on the molecular weight and size distribution of gluten. Food Research International 53: 409–416.

Rad primljen: 18.08.2017.

Rad одобрен: 21.09.2017.



DOI: 10.7251/VETJ1701119I

UDK: 639.3.09:615.33.015.8

Vitomir Ćupić,¹ Saša Ivanović,¹ Gordana Žugić², Dejana Ćupić Miladinović¹,
Miloš Blagojević¹

Stručni rad

NOVI LEK U VETERINARSKOJ KLINIČKOJ PRAKSI – OKLACITINIB MALEAT

Kratak sadržaj

Uvođenjem novog leka oklacitinib maleata u veterinarsku kliničku praksu napravljen je značajan pomak u lečenju alergijskog i kliničkih slučajeva atopijskog dermatitisa (posebno pratećeg svraba) kod pasa.

U lečenju ovih bolesti do sada su se najčešće koristili glukokortikoidi, ciklosporin i antihistaminici. Pokazalo se da ciklosporin ima sličnu aktivnost kao i glukokortikoidi, dok je aktivnost antihistaminika slabija. Novi lek oklacitinib maleat ima antiinflamatorni i antipruritični efekat sličan onom koji izazivaju glukokortikoidi i ciklosporin, ali mu (za razliku od njih) efekat brže nastupa, što mu daje veliku prednost.

Oklacitinib je imunomodulator i ima specifičan mehanizam delovanja. Deluje tako što inhibira aktivnost enzima janus kinaza (pre svega JAK1 i JAK3), od kojih zavisi funkcija proinflamatornih i pruritogenih citokina.

Oklacitinib je prilično bezbedan lek, ukoliko se koristi u kraćem vremenskom periodu i u preporučenim dozama.

Ključne reči: *oklacitinib maleat, alergijski i atopijski dermatitis, psi.*

¹ Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija

² Agencija za lekove i medicinska sredstva, Beograd, Srbija.

DOI: 10.7251/VETJ1701119I

UDK: 639.3.09:615.33.015.8

**Vitomir Ćupić¹, Saša Ivanović¹, Gordana Žugić², Dejana Ćupić Miladinović¹,
Miloš Blagojević¹***Professional Paper*

NEW DRUG IN VETERINARY CLINICAL PRACTICE – OCLACITINIB MALEATE

Abstract

The introduction of a new drug oclacitinib maleate in veterinary clinical practice, has been made a big step forward in the treatment of allergic and clinical cases of atopic dermatitis (especially a accompanying pruritus) in dogs.

So far glucocorticoids, cyclosporine, and antihistamines were most commonly used in the treatment of the above mentioned diseases. It has been shown that cyclosporine has a similar activity, as glucocorticosteroids, while the activity of antihistamines is weaker. New drug oclacitinib maleate has anti-inflammatory and antipruritic effect similar to that caused by glucocorticoids and cyclosporine, but (unlike them) it achieves more rapidly effect, which gives him a huge advantage.

Oclacitinib is an immunomodulator and has a specific mechanism of action. It inhibits the activity of the Janus kinase enzymes (primarily JAK1 and JAK3), from which the function of pro-inflammatory and pruritic cytokines depends.

Oclacitinib is a quite safe drug, if used in a shorter period of time, at the recommended doses.

Key words: *oclacitinib maleate, allergic and atopic dermatitis, dogs.*

UVOD

Oklacitinib ili (N-metil[trans-4-(-metil-7H-pirol[2,3-d]pirimidin-4-ilamino) cikloheksil] metansulfonamid (2Z)-butendioat je novi sintetički lek, koji je odnedavno registrovan i uveden u ve-

terinarsku kliničku praksu u obliku soli oklacitinib maleata. Zahvaljujući inhibiciji enzima janus kinaza, ovaj lek sprečava aktivnost citokina koji učestvuju u nastajanju inflamacije i alergijskih reakcija. Kao takav, oklacitinib je pokazao veoma dobru efikasnost u lečenju alergijskog,

¹ Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Serbia.

² Medicines and Medical Devices Agency of Serbia.

kao i kliničkih slučajeva atopijskog dermatitisa, (posebno pratećeg svraba) kod pasa (Anonymous, 2014; Falk and Ferrer, 2015; Cosgrove i sar., 2013a; Cosgrove i sar., 2013b).

Lečenje ovih oboljenja uglavnom se sastoji od lokalne terapije, alergenspecifične imunoterapije, sprečavanja infestacije buvama i odgovarajuće systemske aplikacije antipruritičnih lekova (Olivry i sar., 2010). Poseban ili bolje reći ključni značaj, kako za životinju, tako i za vlasnike, imaju oni lekovi koji (pored ostalih aktivnosti) efikasno suzbijaju, odnosno smanjuju intenzitet svraba čime se životinji omogućuje bolji kvalitet života, te smanjuje mogućnost samopovređivanja usled stalnog češanja (Favrot i sar., 2010).

Danas se u cilju terapije ovih oboljenja najčešće koriste glukokortikoidi, lekovi sa dokazanom antiinflamatornom, antialergijskom i antipruritičnom aktivnosti (Olivry i sar., 2010; Olivry i sar., 2010a; Olivry i Bizikova, 2013). Međutim, poznato je da njihova dugotrajna primena može uzrokovati određena neželjena delovanja, pa se s vremenom mora smanjivati doza i frekvencija aplikacije. Za razliku od glukokortikoida, antihistaminici nisu tako efikasni u suzbijanju svraba (Olivry i Bizikova, 2013), ali se u kombinaciji sa prednizonom i fenotijazinskim neuroleptikom trimeprazinom postiže sinergistički efekt (Paradis i sar., 1991). Sinergistički efekt se može postići i primenom glukokortikoida u kombinaciji sa esencijalnim masnim kiselinama (Saevik i sar., 2004).

Kao alternativa glukokortikoidima početkom ovog veka uveden je imunomo-

dulatorni lek ciklosporin. Primenjen jednom dnevno u dozi od 5 mg/kg telesne mase (t.m.), utvrđeno je da ciklosporin ima sličnu efikasnost u suzbijanju svraba kao i prednizon (Olivry i sar., 2002; Steffan i sar., 2006; Nutall i sar., 2014; Guaguere i sar., 2004).

Pre nekoliko godina u veterinarsku kliničku praksu uveden je novi lek oklacinib, čijom je primenom ostvaren značajan napredak u kvalitetu lečenja alergijskog i atopijskog dermatitisa, a posebno pratećeg pruritusa kod pasa (Layne i Monello, 2015).

MEHANIZAM DELOVANJA OKLACITINIBA

Kako je već rečeno, oklacinib je namenjen za lečenje alergijskog i kliničkih slučajeva atopijskog dermatitisa, a posebno za suzbijanje pratećeg svraba kod pasa starijih od godinu dana (Cosgrove i sar., 2013a; Cosgrove i sar., 2013b; Gonzales i sar., 2014; Jeromin, 2015).

Oklacinib inhibira aktivnost enzima janus kinaza, od kojih zavisi funkcija proinflamatornih i pruritogenih citokina, kao i onih koji su uključeni u nastajanje alergijskih reakcija. Janus kinaze su otkrivene osamdesetih godina prošlog veka u Australiji i do sada su poznata četiri tipa ili vrste ovih enzima (JAK1, JAK2, JAK3 i TYK2). Utvrđeno je da ovi enzimi imaju veoma važnu ulogu u formiranju belih i crvenih krvnih ćelija, imunitetu, inflamaciji, rastu i razvoju, te zaštiti organizma od stvaranja tumora. Smatra se da oklacinib selektivno inhibira aktivnost JAK1 i (u manjem stepenu) JAK3 (Jero-

min, 2015; Falk i Ferrer, 2015) a (usled toga) i zavisnih proinflamatornih i proalergijskih citokina (IL-2, IL-4, IL-6, IL-13, IL-31) (Gonzales i sar., 2014; Collard i sar., 2014). Navedeni interleukini (citokini) učestvuju u patogenezi alergijskog i atopijskog dermatitisa, te nastanku svraba i inflamacije. Od svih citokina, najvažniju ulogu (naročito u nastajanju svraba) kod pasa ima interleukin-31 koji se oslobađa iz aktiviranih T ćelija i keratinocita. Nakon oslobađanja ovaj interleukin se veže za transmembranske receptore na nervnim vlaknima u koži, koje stimuliše, te se kao posledica ove stimulacije javlja svrab (Marsella i sar., 2012; Metz i sar., 2011). Interleukin-31 je ustvari ključni citokin za nervno posredovano nastajanje svraba, do čega dolazi nakon aktivacije navedenih kinaza. Receptori za interleukin-31 nalaze se još na perifernim mononuklearnim ćelijama i keratinocitima (Metz i sar., 2011; McCandless i sar., 2014). Na JAK 2, odnosno citokine koji su uključeni u hematopoezu oklacitinib slabodeluje (Gonzales i sar., 2014; Collard i sar., 2014). Pored oklacitiniba u JAK inhibitore spadaju još ruksolitinib i tofacitinib koji se koriste za lečenje reumatoidnog artritisa kod ljudi (Jeromin, 2015).

FARMAKOKINETIKA

Posle peroralne primene u terapijskoj dozi (0,4-0,6 mg/kg t.m.) oklacitinib maleat se brzo i dobro apsorbuje iz digestivnog trakta pasa. Na brzinu i stepen apsorpcije ne utiče hrana i maksimalnu koncentraciju (324 ng/ml) u plazmi po-

stiže za manje od jednog sata. Samim tim i bioraspoloživost oklacitinib-maleata je prilično visoka i iznosi 89% (Anonymous, 2014; Collard, 2014).

Nakon apsorpcije, oklacitinib se umešno vezuje za proteine krvne plazme (66,3-69,7%) pasa i volumen distribucije mu iznosi 942 ml/kg t.m. (Anonymous, 2014).

Oklacitinib se metaboliše u jetri u više metabolita, a jedan od najvažnijih je utvrđen u krvi i mokraći. Minimalno inhibira enzim citohrom – P450 (srednja inhibitorna koncentracija je čak za 50 puta veća od maksimalne količine koju ovaj lek postiže u organizmu). Stoga je rizik od moguće interakcije metabolita i drugih lekova, koji može nastati usled inhibicije uzrokovane oklacitinibom minimalan (Anonymous, 2014; Collard, 2014).

Izlučuje se uglavnom putem bubrega, a manje putem žuči. Poluvreme eliminacije oklacitiniba nakon peroralne aplikacije iznosi 4,1, a nakon intravenske 3,5 sata (Anonymous, 2014; Collard i sar., 2014; Collard i sar., 2012).

EFIKASNOST OKLACITINIBA

Klinička ispitivanja su pokazala da oklacitinib efikasno deluje u lečenju alergijskog dermatitisa kod 67% tretiranih pasa, dok mu efikasnost u lečenju atopijskog dermatitisa iznosi 66% (Layne i Moriello, 2015; Cosgrove i sar., 2013b). Smatra se da je oklacitinib naročito koristan u lečenju atopijskog dermatitisa kod pasa, koji nisu reagovali ili su slaboreagovali na lekove koji su se do sada koristi-

li u ove svrhe (injekciona i sublingvalna primena imunomodulatornih lekova, kao što su glukokortikoidi i ciklosporin). Neki autori smatraju da je oklacitinib efikasniji u lečenju ovih bolesti, te da je koristan i u lečenju alergije izazvane hranom (Jeromin, 2015).

Oklacitinib veoma brzo suzbija i ublažava svrab kod tretiranih životinja, znatno brže, u odnosu na glukokortikoide (Fleck i sar., 2013). U prilog ovome govore i rezultati komparativnih ispitivanja oklacitiniba, prednizolona (0,25 mg/kg t.m ili 0,5 mg/kg t.m., jednokratno, p.o.) i deksametazona (0,2 mg/kg t.m., jednokratno, i.m.). Za jedan do tri sata nakon primene oklacitinib je smanjio intenzitet svraba za 80%, dok glukokortikoidi tokom ovog perioda nisu imali efekta (Fleck i sar., 2013). Tek 12 sati nakon primene prednizolona (0,5 mg/kg t.m.) utvrđeno je smanjenje intenziteta svraba za 37% (Fleck i sar., 2013).

Prednosti i nedostaci primene glukokortikoida, ciklosporina i oklacitiniba u lečenju svraba kod pasa prikazani su u tabeli 1 (Layne i Moriello, 2015).

U studiji koja je provedena na 436 pasa sa alergijskim dermatitisom, kod 65% jedinki tretiranih oklacitinibom, sedam dana nakon primene zapaženo je značajno poboljšanje, odnosno smanjenje intenziteta svraba (Cosgrove, 2013b).

Prema podacima vlasnika, kod tretiranih životinja se poboljšava kvalitet života u više od 91% slučajeva (Cosgrove i sar., 2015).

Pored već poznatih indikacija, ispitivanjem je utvrđeno da bi se oklacitinib u budućnosti mogao koristiti i u lečenju drugih pruritičnih dermatoza kao što je svrab kod pasa sa šugom, zatim kod imunoposredovanih dermatoloških stanja (perianalne fistule) ili reaktivnih dermatoza kao što je reaktivna istiocitoza (Frank i sar., 2014).

Tabela 1– Komparativni prikaz prednosti i nedostataka prednizona (ili prednizolona), ciklosporina i oklacitiniba u lečenju svraba kod pasa (*Layne i Morello, 2015*)

LEK	DOZA	NAJČEŠĆI NEŽELJENI EFEKTI	KONTRA-INDIKACIJE	PREDNOSTI	NEDOSTACI
<i>Prednizon ili prednizolon</i>	0,5-1 mg/kg t.m./dan	- <i>Kratkotrajni tretman</i>: povećana žeđ, apetit, uriniranje, zadihanost - <i>Dugotrajni tretman</i>: povećan rizik za infekcije urinarnog trakta i kože, hepatopatija, gastrointestinalne ulceracije	- Diabetes mellitus - Hiperadrenokortizam - Pankreatitis - Gastrointestinalne ulceracije - Insuficijencija bubrega - Sistemske i infekcije kože - Istovremena primena nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL).	- Nisu skupi - Široko su dostupni - Postoje različite formulacije - Dobra efikasnost	- Generalno nisu pogodni za dugotrajnu terapiju - Spor početak delovanja. - Mogu interferirati sa rezultatima intradermalnih testova
<i>Ciklosporin</i>	5 mg/kg/dan u toku 30 dana	- <i>Kratkotrajni tretman</i>: povraćanje, dijareja - <i>Dugotrajni tretman</i>: preraštanje desni, hipertrichoza	- Gastrointestinalna intolerancija - Ranije ili sadašnje prisustvo neoplazija	- Mali broj neželjenih efekata - Dobra efikasnost - Bezbedan za dugotrajnu primenu - Ne interferira sa rezultatima intradermalnih testova.	- Spor početak delovanja. - Skup

<i>Oklacinib</i>	0,4 0,6 mg/kg t.m./12h, u toku 14 dana, a nakon toga jednom dnevno.	- <i>Kratkotrajni tretman: povraćanje, dijareja, smanjen broj leukocita.</i> - <i>Dugotrajni tretman: nije vršena evaluacija.</i>	- Demodikoza ili druge infekcije - Neoplazije - Jedinke mlađe od godinu dana (pneumonija, demodikoza)	- Brz početak delovanja - Dobra efikasnost - Bezbednost kratkotrajne terapije - Ne interferira sa rezultatima intradermalnih alergijskih testova. - Minimalno inhibira aktivnost enzima P450, i na taj način smanjuje se rizik od moguće interakcije.	- Moguć povećan intenzitet svraba kod pojedinih pasa posle prelaska sa početne terapije (dva puta dnevno) na dozu održavanja (jednom dnevno). - Ne može se koristiti sa steroidima.
------------------	---	--	---	---	--

Iako oklacinib nije indikovano za primenu kod mačaka, jedna studija je pokazala da bi se oklacinib (primenjen u dozi od 1 mg/kg t.m. u toku 31 dana) mogao koristiti u lečenju kutane mastocitoze kod ove vrste životinja (Collard i sar, 2012).

Međutim, ispitivanja delovanja oklaciniba (primenjenog u dozi od 0,4 do 0,6 mg/kg t.m., dva puta dnevno u toku 2 nedelje, a potom jednom dnevno u toku dve nedelje) u lečenju dermatitisa (koji nije uzrokovan hranom ili buvama) kod mačaka, pokazala su da je lek bezbedan, ali ne i efikasan. Naime, lek je dao zadovoljavajuće rezultate samo kod 4 od 12 ispitivanih životinja, pa su autori zaključili da su potrebna dalja ispitivanja u cilju pronalaska efikasnije doze i režima doziranja (Gadeyne i sar, 2014).

NEŽELJENI EFEKTI

Kliničke studije su pokazale da je oklacinib bezbedan lek ukoliko se koristi u kraćem vremenskom periodu i u preporučenim dozama (Cosgrove i sar, 2013a; Cosgrove i sar, 2013b; Little i sar, 2015; Frank i sar, 2014; Olivry i sar, 2010).

Tokom početnih ispitivanja utvrđeno je da se neželjeni efekti oklaciniba javljaju kod oko 3% tretiranih životinja. Najčešće je zapaženo povraćanje, a potom dijareja, anoreksija, letargija, polidipsija, iritacija kože i ušnog kanala. Većina navedenih neželjenih efekata se javlja u blagom obliku i najčešće spontano prolazi, mada je kod pojedinih životinja terapija morala biti prekinuta (Cosgrove i sar, 2013b).

U svim objavljenim studijama utvrđen je mali, mada konzistentan broj (<10%) slučajeva razvoja benignih kožnih neoplazija (prevladavaju histiocitomi) kod pasa (Cosgrove i sar., 2013a; Olivry i sar., 2010).

Takođe, kao i kod primene drugih imunomodulatornih, odnosno imunosupresivnih lekova, postoji povećan rizik od moguće pojave bakterijskih i gljivičnih infekcija. Drugim rečima, primenom oklacitiniba povećava se osetljivost životinja prema infekcijama (uključujući demodikoze), a mogu se pogoršati i već postojeća neoplastična stanja. Međutim, prema podacima proizvođača, kod životinja starijih od godinu dana, kojima je primenjivan oklacitinib u jednoj, dva ili pet puta većoj dozi od preporučene, dva puta dnevno u toku 6 nedelja, a potom jednom dnevno u toku 20 nedelja nisu zapaženi slučajevi demodikoze (NADA, 2013). Ipak, ovaj lek ne bi trebalo aplikovati istovremeno sa drugim imunosupresivnim lekovima (glukokortikoidi, azatioprin, ciklosporin) kod lečenja autoimunih bolesti ili kancera.

Pored demodikoze, vlasnici životinja su zapazili da se kod lečenih pasa (mada retko) može pojaviti i interdigitalna pioderma. Kod pojedinih životinja (naročito mlađih, rase nemački ovčar) primećena je pojava virusnih papiloma, agresivno ponašanje (koje nestaje prekidom primene oklacitiniba), grand mal epilepsija, leukopenija, porast telesne mase, povećanje aktivnosti enzima alanin transaminaze i alkalne fosfataze, povećanje koncentracije kreatinina te povećanje frekvence nastanka kožnih tumora (Jeromin, 2015).

U jednoj od poslednjih studija provedenoj na 247 pasa, koja je trajala 401 dan, kod tretiranih životinja zapaženi su: cistitis (11,3% slučajeva), povraćanje (10,1%), otitis (9,3%), pioderma (9,3%) i dijareja (6,1%), dok nije bilo promena u broju krvnih ćelija (Cosgrove i sar., 2015).

ZAKLJUČAK

Na osnovu svega navedenog može se zaključiti sledeće:

1. Uvođenjem oklacitiniba u kliničku praksu značajno je poboljšan kvalitet lečenja alergijskog i kliničkih slučajeva atopijskog dermatitisa (posebno pratećeg svraba) kod pasa.

2. Svoje efekte oklacitinib postiže inhibicijom aktivnosti enzima janus kinaza od kojih zavisi funkcija proinflamatornih citokina (IL-2, IL-4, IL-6, IL-13, IL-31). Od svih citokina najvažniju ulogu (naročito u nastajanju svraba) kod pasa ima interleukin-31.

3. Ispitivanja su pokazala da je oklacitinib prilično bezbedan lek, ukoliko se koristi u kraćem vremenskom periodu u preporučenim dozama.

4. Početne studije su pokazale da se neželjeni efekti javljaju kod manje od 3% životinja. Najčešće su to: povraćanje, dijareja, anoreksija, letargija, polidipsija, te iritaciju kože i ušnog kanala. Ipak, (mada ređe, naročito kod dugotrajne primene) kod životinja se mogu javiti i drugi, (ozbiljniji) neželjeni efekti, kao što je povećana osetljivost na razne bakterijske i gljivične infekcije, te razvoj benignih kožnih neoplazija (prevladavaju histiocitomi).

LITERATURA

1. Anonymous. Oclacitinib maleate. Drug label information. Biochemical Data Summary, 2014.
2. Collard WT, Hummel BD, Fielder AF, et al. The pharmacokinetics of oclacitinib maleate, a Janus kinase inhibitor, in the dog. *J. Vet Pharmacol Ther.* 2014; 37(3): 279–285.
3. Collard T, Fielder A, Zaya J, Stegemann MR. The absorption, distribution, metabolism, and elimination of oclacitinib maleate, a novel Janus kinase inhibitor, in the dog. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2012; 35 (Suppl. 3): 139–140 (poster session abstract).
4. Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM. Et al. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2013a; 24(6):587–597.
5. Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM. et al. Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2013b; 24(5):479–e114.
6. Cosgrove SV, Cleaver DM, King VL. Et al. Long term compassionate use of oclacitinib in dogs with atopic and allergic skin disease: safety, efficacy and quality of life. *Vet. Dermatol.* 2015; 26(3):171–179.
7. Falk E, Ferrer L. Tufts University, 2015.
8. Favrot C, Linek M, Mueller R et al. Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on helath-related quality of life of affected dogs and their owners. *Vet Dermatol.* 2010; 21:63–69.
9. Fleck TJ, Humphrey WH, Galvan EA, et al. Comparison of the onset antipruritic activity of the JAK inhibitor oclacitinib to prednisolone and dexamethasone in an interleukin-31 canine model of pruritus (abst). *Vet Dermatol.* 2013; 24:295–309.
10. Frank RK, Galvan BA, Schoell AR, et al. Use of oclacitinib (Apoquel) for the treatment of cutaneous mastocytosis in a cat. *Vet Dermatol.* 2014; 25(3): 153 (abstract).
11. Gadeyne C, Little P, King VL, et al. Efficacy of oclacitinib (Apoquel) compared with prednisolone for the control of pruritus and clinical signs associated with allergic dermatitis in client-owned dogs in Australia. *Vet Dermatol.* 2014; 25(6): 512–518.
12. Gonzales AJ, Bowman JW, Gici GJ, Zhang M, Mann DW, Mitton-Fry M. Oclacitinib is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *J Vet. Pharmacol. Therap.* 2014; 37(4): 317–324.
13. Guaguere E, Steffan J, Olivry T. Cyclosporin A: a new drug in the field of canine dermatology. *Vet Dermatol.* 2004; 15:61–74.
14. Jeromin A. Will oclacitinib revolutionize the treatment of allergic dermatitis. <http://veterinarynews.dvm.360.com>.
15. Layne EA, Moriello KA. What is new with an old problem: Drug options for treating the itch of canine allergy.

- School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin. Madison, USA. 2015. Veterinary Medicine. DVM360.
16. Little PR, King VL, Davis KR, Cosgrove SB, Stegemann MR. A blinded, randomized clinical trial comparing the efficacy and safety of oclacitinib and ciclosporin for the control of atopic dermatitis in client-owned dogs. *Vet Dermatol.* 2015; 26(1): 23–30;
 17. Marsella R, Sousa C, Gonzales A, et al. Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2012; 242:194–207.
 18. McCandless E, Rugg C, Fici G, et al. Alergen-induced production of IL-31 by canine Th2 cells and identification of immune, skin, and neuronal target cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2014; 157:42–48.
 19. Metz M, Grundiman S, Stander S. Pruritus: an overview of current concepts. *Vet Dermatol.* 2011; 22:121–131.
 20. NADA, 141-345. Freedom on information. Control of pruritus associated with allergic dermatitis and control of atopic dermatitis in dogs at least 12 months of age. 2013.
 21. Nutall T, Reece D, Roberts E. Life-long diseases need life-long treatment: long-term safety of ciclosporin in canine atopic dermatitis. *Vet Rec.* 2014; 174 (suppl).
 22. Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C. et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* 2010; 21:233–248.
 23. Olivry T, Foster A, Mueller R et al. Interventions for atopic dermatitis in dogs: a systematic review of randomized controlled trials. *Vet Dermatol.* 2010a; 214–22.
 24. Olivry T, Bizikova P. A systemic review of randomized controlled trials for prevention or treatment of atopic dermatitis in dogs: 2008–2011 update. *Vet Dermatol.* 2013; 24:97–117.
 25. Olivry T, Rivierre C, Jackson H. Et al. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Vet Dermatol.* 2002; 13: 77–87.
 26. Paradis M, Scott D, Giroux D. Further investigations on the use of nonsteroidal and steroidal anti-inflammatory agents in the management of canine pruritus. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1991; 27:44–48.
 27. Saevik B, Bergvall K, Holm B. et al. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2004; 15:137–145.
 28. Steffan J, Favrot C, Mueller RA. A systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of ciclosporin for the treatment of atopic dermatitis in dogs. *Vet Dermatol.* 2006; 17:3–16.

Rad primljen: 29.5.2017.

Rad odobren: 20.09.2017.

DOI: 10.7251/VETJ1701129S

UDK: 619:616.988.21

Оливер Стевановић¹, Соња Николић¹, Владислав Мандић¹, Драго Н. Недић¹,
Жељко Секулић², Иван Павловић³

Оригинални научни рад

ТОКСОКАРОЗА И АНКИЛОСТОМАТИДОЗА ЛИСИЦА (*VULPES VULPES*) У РЕПУБЛИЦИ СРПСКОЈ

Кратак садржај

У раду су приказани резултати копролошких претрага 48 узорака фецеса лисица (*Vulpes vulpes*) са територије Републике Српске (Босна и Херцеговина). Постављен је паразитолошки осврт на присуство аскаридиде *Toxocara canis* и анкилостоматида. Јаја аскаридидног типа дијагностикована су код 12,50% (6/48) лисица, док су јаја стронгилидног типа утврђена код 31,25% (15/48) испитиваних узорака фецеса. Највећа преваленција токсокарозе и анкилостоматидозе установљена је код лисица од 1 до 2 године старости. На основу ових података може се закључити да су лисице извор зоонозних паразитских врста, које представљају опасност за домаће и дивље животиње, као и човјека. Зато контрола нематодоза које су праћене у овом истраживању код лисица има јавно здравствени значај.

Кључне ријечи: токсокароза, анкилостоматидоза, лисице, Република Српска

¹ ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука, Република Српска, БиХ

² Ловачко удружење „Тетријеб“ Теслић, Република Српска, БиХ

³ Научни институт за ветеринарство Србије, Београд, Република Србија

DOI: 10.7251/VETJ1701129S

UDK: 619:616.988.21

Oliver Stevanović¹, Sonja Nikolić¹, Vladislav Mandić¹, Drago N. Nedić¹,
Željko Sekulić², Ivan Pavlović³

Original Scientific Paper

TOXOCAROSIS AND ANCYLOSTOMATIDOSIS IN RED FOXES (*VULPES VULPES*) IN REPUBLIC OF SRPSKA

Abstract

In this paper are presented the results of 48 coprological examinations of red foxes (*Vulpes vulpes*) from the territory of Republic Srpska (Bosnia and Herzegovina). Parasitological emphasis is set on the presence of ascarids - *Toxocara canis* and ancylostomatids. Ascarid type eggs were detected in 12,50% (6/48) samples, while the strongyle eggs were detected in 31,25% (15/48) of samples of feces. Highest prevalence of toxocarosis and ancylostomatidosis was established in foxes from 1 to 2 years of age. Based on these data, we can conclude that the fox is the source of zoonotic parasitic species, which represent source of infection for wild and domestic animals as well for humans. Therefore, the control of the nematodoses which were monitored in this research in foxes has a public health significance.

Key words: *toxocarosis, ancylostomatidosis, foxes, Republic of Srpska*

УВОД

Паразитолошки прегледи лисица (*Vulpes vulpes*) у Босни и Херцеговини су почели почетком 60-их година прошлог вијека, када је код канида описано присуство нематода *Filaroides osleri* и *Gongylonema pulchrum* (Делић и сар., 1961; Делић и сар., 1966). Лисице постају предмет учесталијих паразитолошких испитивања последњих година. Хоџић и сар. (2014) обавили су прву већу епидемиолошку студију

пресека заступљености интестиналних протозоа *Cryptosporidium* spp. и *Giardia lamblia* (syn. *intestinalis*), код црвених лисица у Босни и Херцеговини, гдје је установљена преваленција наведених зооноза од 3,2% и 7,6%. Поред тога, у неколико опсежних студија код лисица са истог епизоотиолошког подручја приказано је присуство и заступљеност паразита *Pearsonema plica* у мокраћној бешици (Алић и сар., 2015), кардио-респираторних паразита: *Eucoleus boehmi*, *E. aerophilus*,

¹ PI Veterinary Institute of Republic of Srpska „Dr. Vaso Butozan“ Banja Luka, Republic of Srpska, B&H

² Lovačko udruženje „Tetrijeb“ Teslić, Republic of Srpska, B&H

³ Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Belgrade, Serbia

Crenosoma vulpis и *Linguatula serrata* код лисица (Хоџић и сар., 2016).

Без обзира на велики допринос наведених истраживача у разумијевању паразитофауне код лисица на територији Босне и Херцеговине, не постоје расположиви подаци о присуству и заступљености интестиналних нематода које имају зоонозни потенцијал. Ова констатација се првенствено односи на узрочнике токсокарозе (*Toxocara canis*) и анкилостоматидозе (*Ancylostoma caninum* и *Uncinaria stenocephala*). Опште је познато да оба паразита имају зоонозни потенцијал, те да могу да инфицирају човјека као неспецифичног домаћина. Литературни подаци о преваленцији *T. canis* и анкилостоматида варирају и крећу се до 59% за токсокарозу (Al-Sabi и сар., 2013) и 70% за анкилостоматидозу (Magi и сар., 2016). Међутим, доказане су и знатно мање преваленције за токсокарозу. У прилог томе иду и подаци које наводе Magi и сар., (2009) да је у Италији преваленција *T. canis* износила 9,1%. Без обзира на преваленцију, лисице су у извесној мјери извор инфекције за домаће животиње и самим тим извор контаминације за јавне површине – углавном сеоска газдинства, гдје често неконтролисано улазе. Ово је био један од главних разлога за спровођење истраживања преваленције наведених паразита, које би могло да послужи као предмет процјене ризика у епизоотиологији/епидемиологији токсокарозе и анкилостоматидозе у Републици Српској.

Лисица је као врста је показала из-

узетну еколошку флексибилност, насељава скоро сва подручја Републике Српске, односно БиХ, почевши од најнижих подручја па до највиших планинских масива. Густина насељености у нижим и брдским предјелима, надамак руралних подручја, знатно је већа од оних у вишим предјелима, што је уско повезано са погоднијим климатским условима и разноврснијим и бројнијим изворима хране које овај предатор користи (Meek, 1998).

ЦИЉЕВИ РАДА

Рад је имао за циљ да прикаже:

1. заступљеност и дистрибуцију токсокарозе и анкилостоматидозе код лисица на територији Републике Српске (Босна и Херцеговина);
2. утицај старости на појаву наведених нематодоза код лисица на територији Републике Српске (Босна и Херцеговина).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Извршен је копролошки преглед 48 лисица које су уловљене и достављене у ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука. Узорак фецеса (минимално 2–3 грама) за копролошки преглед је директно узет из ампуле ректума, пакован је у ПВЦ врећице и чуван на температури од -20°C до прегледа. Копролошки преглед је извршен методом пасивне флотације са засићеним воденим раствором цинк сулфата ($ZnSO_4$, специфична тежина 1,30-1,40 на температури од 20°C). Дијагноза је постављена на основну морфолошких

карактеристика јаја паразита (Soulsby, 1968).

Обрађени су и подаци о преваленцији токсокарозе и анкилостоматидозе код лисица са подручја Ребублике Српске (БиХ).

Прикупљени су и анализирани подаци о старости и локацији са које су потицале уловљене јединке – епидемиолошке јединице које представљају територије локалних самоуправа – општина и градова.

Статистичка компарација између старосних категорија лисица је извршена Фишеровим тестом у програму Graph Pad Prism.

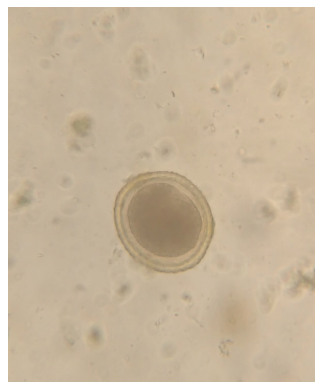
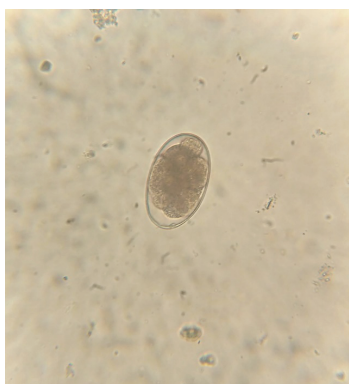
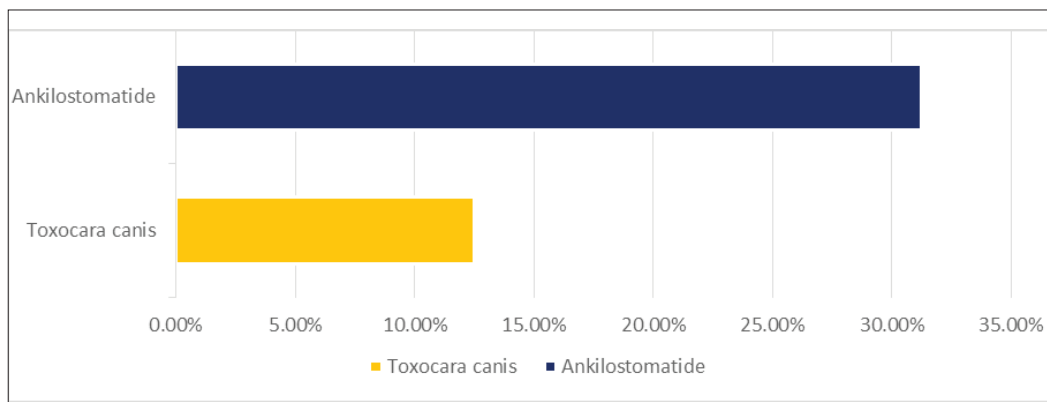
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Од укупно 48 прегледаних узорака фецеса, истраживани паразитски елементи су утврђени код 21 (43,75%) лисице. Јаја нематод *T. canis* су дијагностикована код 12,50% (6/48), а јаја анкилостоматида код 31,25% (15/48) животиња (Табела 1; Слика 1 и 2). Полипаразитизам врсте *T. canis* и анкилостоматида установљен је код 6,25% (3/48) лисица, углавном млађих од годину дана (4,16%) и оних између 1–2 године старости (2,08%). Није уочена статистичка значајна разлика у инфекцији лисица са *T. canis* и анкилостоматидама у односу на старосну категорију.

Табела 1. Преваленција токсокарозе и анкилостоматидозе код лисица на територији Републике Српске

Паразитска врста	Укупно прегледаних лисица	Укупно позитивних на паразитске врсте	Преваленција (%)	Старосна категорија лисица			
				до 1 године (%)	1-2 године (%)	2-3 године (%)	преко 3 године (%)
<i>T. canis</i>	48	21 (43,75%)	6 (12,50%)	2 (4,16%)	3 (6,25%)	1 (2,08%)	0
Анкилостоматиде			15 (31,25%)	5 (10,41%)	6 (12,50%)	4 (8,33%)	0

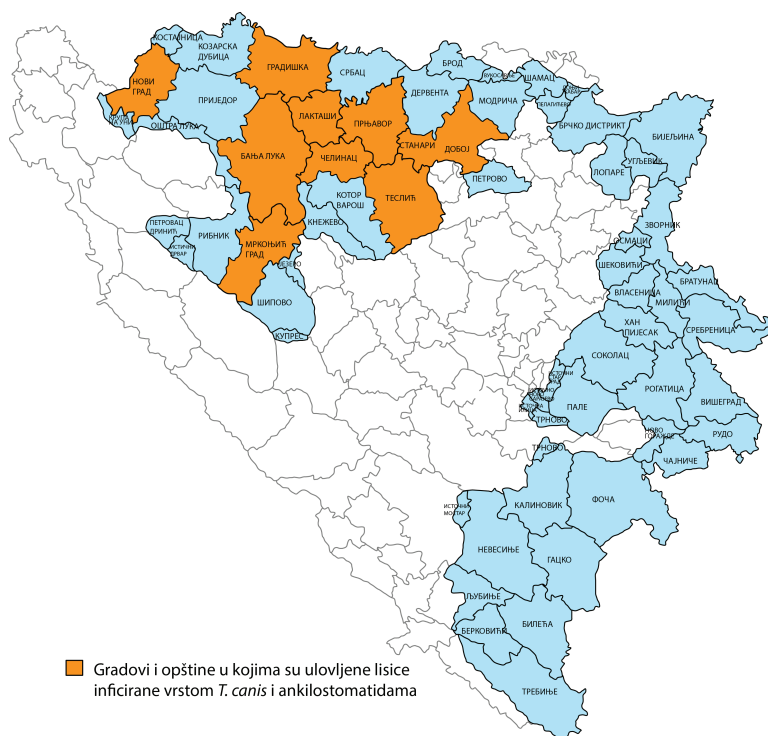
Графикон 1. Графички приказ преваленције токсокарозе и анкилостоматидозе код лисица на територији Републике Српске



Слика 1 и 2. Неембрионирано јаје *Toxocara canis* и јаје анкилостоматида (увеличање објектива 40х, увеличање окулара 10х)

Лисице инфициране врстом *T. canis* и анкилостоматидама су биле поријеклом из следећих епидемиолошких јединица Републике Српске: Бања Лука, Прњавор, Теслић, Челинац, Градишка, Лакташи, Мркоњић Град, Добој и Нови Град (Мапа 1). Највећи број обољелих лисица припадао је старо-

сној категорији 1 до 2 године, код којих је преваленција токсокарозе износила 6,25%, а анкилостоматидозе 12,50% респективно. Поједини подаци из литературе потврђују да су лисице старије од 1 године чешће инфициране интестиналним паразитима (Al-Sabi и сар., 2013).



Мапа 1. Преглед градова и општина Републике Српске у којима су уловљене лисице инфициране врстом *T. canis* и анкилостоматидама

Значај познавања преваленције токсокарозе и анкилостоматидозе је у томе што ове паразитске болести имају значај за јавно здравље. *Toxocara canis* код људи изазива синдром висцералне ларве мигранс (ВЛМ), док инфективне ЛЗ ларве *A. caninum* могу перкутано да инфицирају човјека. Међутим, кутана ларва мигранс (КЛМ) изазива мање здравствене сметње код људи у односу на ВЛМ. Паразитолошка испитивања лисица су значајна јер оне представљају извор контаминације за јавне површине, а самим тим могу бити извори инфекције за човјека и домаће животиње, углавном псе. Лисице улазе у сеоска газдинства,

посебно за вријеме лова, током ноћи и у том периоду постоји висок ниво ризика за контаминацију површина њиховим инфективним фецесом. На тај начин *T. canis* и анкилостоматиде могу унакрсно да инфицирају домаће псе.

Генерално, преваленција токсокарозе код лисица са територије Републике Српске је нешто нижа у односу на литературне податке. Преваленција токсокарозе у Данској је износила око 60% (Al-Sabi и сар., 2013). Епидемиолошки подаци из Словеније потврђују преваленцију *T. canis* од 38,3% (Vergles Rataj и сар., 2013). У Србији преваленција *T. canis* је била око 41,17% (Илић и сар., 2016). Ниска преваленција *T. canis* је утврђена у појединим регионима Италије и износила је 9,1% (Magi и сар., 2009). Нематоды лисица, укључујући *T. canis* и анкилостоматиде биле су заступљене са преко 20% на територија града Загребa – Хрватска (Rajković-Janje и сар., 2002).

Преваленција анкилостоматиде од 31,25% у популацији лисица из Републике Српске одговара подацима из литературе. *Ancylostoma caninum* и *U. stenocephala* се тешко могу разликовати на основу изгледа јаја, те није практично ове двије врсте дијагностиковати на основу резултата копроскопског прегледа. *Uncinaria stenocephala* је високо заступљена анкилостоматиде код лисица и по неким подацима се може јавити са преваленцијом и до 70% (Magi и сар., 2016). Анкилостоматиде су изузетно заступљене код лисица у медитеранском подручју, а инфекција настаје када пријем-

чива животиња (лисица) перорално унесе инфективне ЛЗ ларве у организам или кад исте пенетрирају кроз кожу. Оквирна преваленција анкилостоматиде се креће око 40% (Magi и сар., 2016). Неминовно је напоменути да копроскопске методе испитивања имају мању сензитивност од паразитолошке секције (Magi и сар., 2009) у детекцији појединих паразита, и важно је споменути да је реална преваленција *T. canis* и анкилостоматиде код лисица на територији Републике Српске већа.

ЗАКЉУЧАК

Код лисица на територији Републике Српске токсокароза и анкилостоматидоза су у мањој мјери заступљене него у земљама из окружења, а преваленција ових нематодоза је у директној корелацији са ризиком контаминације зелених јавних (углавном сеоских) површина. Највећи број инфицираних лисица врстом *T. canis* и анкилостоматидама припада старој групи од 1 до 2 године.

Планско и правилно газдовање популацијом овог предатора подразумева одржавање биолошке равнотеже, у којој лисица има значајно мјесто, спровођење редовног паразитолошког надзора и по потреби активних мјера сузбијања појединих болести. Задатак ловне и ветеринарске струке је да у наредном периоду, што боље организују контролу појаве, ширења и одржавања обољења које преноси лисица.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Al-Sabi M.N., Chriél M., Jensen T.H., Enemark H.L. (2013): *Endoparasites of the raccoon dog (Nyctereutes procyonoides) and the red fox (Vulpes vulpes) in Denmark 2009-2012 - A comparative study. Int J Parasitol Parasites Wildl*, 17: 144–151.
2. Alić A., Hodžić A., Kadrić M., Beširović H., Prašović S. (2015): *Pearsonema plica (Capillaria plica) infection and associated urinary bladder pathology in red foxes (Vulpes vulpes) from Bosnia and Herzegovina. Parasitol Res*, 114: 1933–1938.
3. Delić S., Čanković M. (1961): *Gongylonema pulchrum (Molin 1857) kod lisice (Vulpes vulpes L.). Vet glasnik*, 7: 629–631.
4. Delić S., Džuvic A., Kiškarolj M., Rukavina J. (1966): *Filaroides osleri (Cobbold, 1879; Skrjabin, 1933) kod vukova i lisica. Veterinaria*, 15: 249–253.
5. Hodžić A., Alić A., Omeragić J. (2014): *Occurrence of Cryptosporidium spp. and Giardia duodenalis in red foxes (Vulpes vulpes) in Bosnia and Herzegovina. Mac Vet Rev*, 37: 189–192.
6. Hodžić A., Alić A., Klebić I., Kadrić M., Brianti E., Duscher G.G. (2016): *Red fox (Vulpes vulpes) as a potential reservoir host of cardiorespiratory parasites in Bosnia and Herzegovina. Vet Parasitol*, 223: 63–70.
7. Ilić T., Becskei Z., Tasić A., Stepanović P., Radisavljević K., Đurić B., Dimitrijević S. (2016): *Red foxes (Vulpes vulpes) as reservoirs of respiratory capillaritis in Serbia. J Vet Res*, 60: 153–157.
8. Magi M., Macchioni F., Dell' Omodarme M., Prati M.C., Calderini P., Gabrielli S., Iori A., Cancrini G. (2009): *Endoparasites of Vulpes vulpes in Central Italy. J Wildl Dis*, 45: 881–885.
9. Magi M., Guardone L., Mignone W., Prati M.C., Macchioni F. (2016): *Intestinal helminths of red foxes (Vulpes vulpes) in north-west Italy. Helminthologia*, 53: 31–38.
10. Meek P.D. (1998): *The biology of the European red fox and the free roaming dog on Bherwerre Peninsula, Jervis Bay. University of Canberra*.
11. Rajković-Janje R., Marinculić A., Bosnić S., Benić M., Vinković B., Mihaljević Ž. (2002): *Prevalence and seasonal distribution of helminth parasites in red foxes (Vulpes vulpes) from the Zagreb County (Croatia). Z Jagdwiss*, 48: 151–160.
12. Soulsby E.J.L. (1968): *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Williams & Wilkins Co., 6th ed, Baltimore, 824. str.
13. Vergles Rataj A., Posedi J., Zele D., Vengušt G. (2013): *Intestinal parasites of the red fox (Vulpes vulpes) in Slovenia. Acta Vet Hung*, 61: 454–462.

Рад примљен: 10.05.2017.

Рад одобрен: 20.09.2017.

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-популаризујућих текстова и информативних чланака из области ветеринарске медицине у Републици Српској и региону.

Сви приспјели рукописи на адресу часописа се прослеђују на стручну рецензију. У зависности од теме рукописа главни и одговорни уредник бира најмање двочлану рецензију, а по потреби и више рецензената. Рецензија је анонимна. Уколико рецензенти процијене и предложе корекције, уредник

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

Ваше рукописе можете слати путем онлајн поште на адресу главног и одговорног уредника: drago.nedici@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 Cyrilic, Serbian Latin*). Фонт треба да буде *Times New Roman*, величина фонта *12 pt* са једноструким проредом. Све маргине подесити на *2,54 mm*, а величине странице на А4 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 Међународног система јединица – SI систем. Фотографије, графиконе и табеле треба уврстити у рад, али због квалитета штампе је повољно слати их и у посебном фолдеру. 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 у оквиру.

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 наводи се скраћенице.
- имена аутора – написати испод наслова. Обавезно нагласити пуна имена и презимена аутора. У суперскрипту нагласити бројеве који у фусноти означавају институције у којима су аутори запослени.

- име и презиме коресподентног аутора – навести на дну странице са контактом (имејл и/или телефон) и институцијом гдје је аутор запослен;

Кратак 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 јасно и концизно описати 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 у 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 паса и мачака*. Младост биро, Београд

Рад или кратак садржај из Зборника радова:

Ђупић В., Траиловић Д., Добрић С., Велев Р. (2005): Значај рационалне примене лекова у ветеринарској медицини. *Proceeding of Workshop Clinica Veterinaria Ohrid*, Македонија, 3–7. септембар 207–9.

Хвала на сарадњи!

АДРЕСА ЧАСОПИСА:

ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“
Бања Лука

Бранка Радичевић 18, 78000
Бања Лука

Телефон/факс: +387 229 – 210

имејл: drago.nedic@virs-vb.com

веб страница: 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)



9 771840 288002