

PUNKCIJA EPIDIDIMISA NERASTA U CILJU DIJAGNOSTIKE BRUCELOZE SVINJA

**Rogožarski Dragan¹, Dobrosavljević Ivan¹,
Đuričić Bosiljka², Milanov Dubravka³**

¹Veterinarski specijalistički institut, Požarevac

²Fakultet veterinarske medicine, Beograd

³Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Kratak sadržaj

Na prostoru Srbije, najčešće u regionima koje se prostiru uz reku Dunav, Mlavu i Moravu, javlja se bolest kod ekstenzivno držanih svinja, u narodu poznata kao „rednja“. Pobacuju krmače u celom zaseoku ili selu jer je vršen prirodan pripust jednim nerastom koji je oboleo od bruceloze. Programom mera je predviđena kontrola priplodnih nerastova na brucelozu dva puta godišnje, ali se u ovim ekstenzivnim uslovima nerast ne pregleda jer i nije prijavljen. Prouzrokiivač je tek nedavno izolovan, a tipizacijom je potvrđena *Brucella suis* biotip 2(7). Vlasnici ne prijavljuju pobačaje jer smatraju da su se svinje mehanički povredile prilikom hranjenja i pojenja. Kada je veterinar pozvan može da postavi sumnju na brucelozu. Simptomi ove bolesti su nespecifični i tek kod pobačaja ili otoka testisa nerasta može se posumnjati na brucelozu. Bruceloza svinja se može dijagnostikovati: kliničkim pregledom, izolacijom, identifikacijom i tipizacijom uzročnika, serološkim pregledom i biološkim ogledom. Uzorkovanje krvi je najčešće u slučaju pobačaja radi serološke kontrole na brucelozu, uz dostavljanje pobačenih plodova ili posteljice radi izolacije uzročnika. U literaturi se kao najvažniji uzorci za bakteriološki pregled, pored navedenih, navode mandibularni, retrofaringealni i supramamarni limfni čvorovi, seme nerasta, odnosno testisa posle kastracije. Svi ovi uzorci se ne mogu uzeti kod neblagovremene prijave pobačaja. Ostaje samo krv za serološki pregled. Međutim, u literaturi se ne pominje nigde punktati epididimisa kao mogući značajan uzorak za bakteriološki pregled koji se pored uzorkovanja krvi može dobiti od žive životinje. Fiksiranjem nerasta radi uzorkovanja krvi omogućava se i uzimanje punktata epididimisa iz koga se može izolovati *Brucella suis*. Posle dezinfekcije vrši se ubod sterilnom iglom do 1 cm dubine a zatim vrši aspiracija sadržaja 1-2 ml. Ponekad se pojavi sukrvica koja ne ometa

¹ E mail: rogozdragan@gmail.com

ispitivanje. Materijal se može zamrznuti i ispitati kada za to postoje uslovi i adekvatna laboratorija. Punktat epididimisa se preporučuje kao bezbedan i pouzdan način za uzimanje uzoraka obolele životinje za izolaciju i identifikaciju *Brucella suis* biotip 2. U toku bakteriološkog ispitivanja punktata epididimisa ustanovljeno je da rast *Brucella suis* nije ometan drugim bakterijskim vrstama.

Ključne reči: *Brucella suis*, epididimis, nerast, punkcija

PUNCTURE OF BOAR'S EPIDIDYMISS FOR DIAGNOSING PORCINE BRUCELLOSIS

**Rogožarski Dragan¹, Dobrosavljević Ivan¹,
Đuričić Bosiljka², Milanov Dubravka³**

¹Veterinarski specijalistički institut, Požarevac

²Faculty of Veterinary Medicine, Beograd

³Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad

Abstracts

In Serbia, mostly along the Danube, Morava and Mlava rivers, in animals reared under extensive conditions a disease named "rednja" may be detected. In the settlements where abortion is diagnosed all the sows mate with one boar that is infected with brucellosis. The Veterinary Program designs the control of Brucellosis twice a year, but the boars raised in extensive system are not controlled and they are not registered. The causative agent was only recently isolated, confirmed and typed as *Brucella suis* biotype 2 (7). The owners have not reported the cases of abortion because they had thought that the reason are mechanical injuries that occur during feeding and drinking. After the visit of a vet a suspicion of brucellosis is notified. The symptoms of this disease are nonspecific. Only after abortion and if the swelling of boar scrotum occurs Brucellosis can be suspected. Brucellosis can be diagnosed in pigs by clinical examination, isolation, identification and typing of pathogens, serological and biological examination. Blood sampling is usually done in the case of abortion for serology examination, and also the placenta or aborted foetus is used for determining the cause. In addition to the above mentioned, the most important samples for bacteriological examination are the mandibular, retropharyngeal and suprarenal lymph nodes, boar semen, i.e. testis after castration. All these samples

¹ E mail: rogozdragan@gmail.com

cannot be taken when the reports on abortion are untimely. This means, only blood samples for serological examination can be taken. However, the literature does not mention epididymal puncture as a possible sample that is important for bacteriological examination, in addition to blood sampling from live animals. When the boars are fixed for blood sampling, the puncture of the epididymis can also be carried out for isolation of *Brucella suis*. After the disinfection, a sterile needle is stitched about 1 cm in depth and about 1-2 ml of the content is aspirated. Occasional sanies does not interfere the testing. The material can be frozen and examined when there the conditions are favourable and the laboratory available. Epididymal puncture is recommended as a safe and reliable way of sampling the diseased animals for the isolation and identification of *Brucella suis* biotype 2. During the bacteriological examination it was found that other bacterial species did not affect the growth of *Brucella suis*.

Keywords: *Brucella suis*, epididymis, boar, puncture

UVOD

Na prostoru Srbije, najčešće u regionima koje se prostiru uz reku Dunav, Mlavu i Moravu, dokazano je serološki postojanje bruceloze svinja, ali je pro-uzrokiivač tek nedavno izolovan i tipizacijom potvrđen kao *Brucella suis* biotip 2(7). Ova bolest je u narodu poznata kao „rednja“, kada pobacuju svinje u celom zaseoku ili selu, jer je vršen pripust istim zaraženim nerastom. Kada veterinar slučajno sazna za problem, krmača je već zaklana. Nerast se kastrira, a bolest perzistira. U navedenim regionima često se priplodne svinje drže paš-no ili u šumi te je moguć kontakt sa mnogim drugim svinjama, ali i sa divljim (5). Bruceloza svinja se može dijagnostikovati kliničkim pregledom, izolacijom, identifikacijom i tipizacijom uzročnika, serološkim pregledom i biološkim ogledom. Poznata je činjenica da se bolest kod životinja ne manifestuje patognomoničnim kliničkim znacima. To predstavlja veliki problem u dijagnostici bruceloze, što često može dovesti i do grešaka. Simptomi ove bolesti su nespecifični i tek kod pobačaja ili orchitisa nerasta može se posumnjati na brucelozu. Pouzdana dijagnoza se postavlja jedino izolovanjem i identifikacijom uzročnika *B. suis* (6). U slučaju pobačaja obavezna je serološka kontrola na brucelozu uz dostavljanje pobačenih plodova ili posteljice. Serološki pregled je zbog unakrsnih reakcija nedovoljan za postavljanje konačne dijagnoze (naročito u početku bolesti). U malim zaptima svinja (1-5 grla) ove mere se najčešće izbegavaju, u slučaju pobačaja veterinar se ne obavesti, a materijal ne dostavlja na ispitivanje. Mali zapati svinja (koji su u Srbiji najčešći) ne kontrolišu se ni serološki a predstavljaju mogući izvor zaraze.

U literaturi se kao najvažniji uzorci za bakteriološki pregled navode mandibularni, retrofaringealni i supramamarni limfni čvorovi. Često se koristi i krv iz koje se mogu izolovati uzročnici u akutnoj fazi bolesti. Najčešće se preporučuje uzorkovanje: delova posteljce, pobačenih plodova, vaginalni i prepucijalni bris, kao i seme nerasta, odnosno testisa posle kastracije. Bakteriološki pregled sadržaja otečenih zglobova, apscesa i sl. može nam pomoći u postavljanju dijagnoze (1, 2) (2005). Takođe je dokazano da se kod infekcija biotipom 1 *B. suis* bakteriološkim pregledom malog uzorka limfnih čvorova dobija isti broj pozitivnih rezultata kao i kod serološkog pregleda (4).

Međutim, u literaturi se nigde ne pominje punktat epididimisa kao mogući značajan uzorak za bakteriološki pregled koji se pored uzorkovanja krvi može dobiti od žive životinje.

CILJ RADA

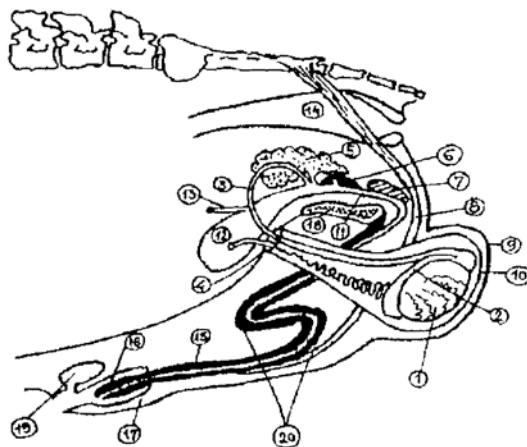
1. da se prikaže punkcija epididimisa nerasta kao jedna od novih metoda uzorkovanja materijala od živih životinja;
2. da se prikaže način izolacije i identifikacije uzročnika bruceloze svinja primenom bakterioloških metoda.

MATERIJAL I METOD RADA

Poznato je da se bruceloza svinja najčešće širi direktnim kontaktom, odnosno prirodnim parenjem (7). Uzročnik bruceloze (*Brucella suis* biotip 2) prisutan je u semenu nerasta već 14 dana po infekciji (7).

Za prikupljanje uzoraka semena iz testisa vrši se punkcija epididimisa. Punkcija epididimisa nerasta vrši se posle pripreme neophodnog materijala: sredstvo za dezinfekciju – povidon jod, sterilni tupferi gaze i vate, sterilan plastični špric od 2-5 ml, sterilne igle za punkciju promera veličine od 1,8 do 2,0. Pre punkcije epididimisa neophodno je izvršiti pripremu mesta punktiranja. Posle fiksiranja nerasta užeatom za gornju vilicu od strane jednog pomoćnika, drugi pomoćnik prihvata levom rukom rep, diže ga gore, a potom desnom rukom prihvata testis u distalnom delu, snažno ga potiskuje gore te dolazi do ispupčenja u proksimalnom delu kranijalno gde se jasno uočava *caput epididymis* (Slika 1, 2 i 3). Posle dezinfekcije vrši se ubod sterilnom iglom do 1 cm dubine, a zatim vrši aspiracija sadržaja. Ponekad se pojavi sukrvica koja ne ometa ispitivanje.

Slika 1. Šematski prikaz položaja polnih organa nerasta (8).



1. Testis; 2. epididimis; 3. semevod; 4. ingvinalni kanal; 5. vezikularne žlezde; 6. prostata; 7. bulbouretralne žlezde; 8. musculus retractor penis; 9. scrotum; 10. tunica vaginalis communis; 11. uretra; 12. mokraćna bešika; 13. ureter; 14. rectum; 15. penis; 16. glans penis; 17. prepuce; 18. sinfiza pelvis; 19. prepucialna burza; 20. flexura sigmoidea penis.



Slika 2, 3. Punkcija epididimisa nerasta.

Dovoljno je 1-2 ml materijala. Posle vađenja igle sterilnom gazom natopljenom povidon jodom vrši se dezinfekcija, a materijal u špricu ili sterilnoj ependorf epruvetici dostavlja laboratoriji na ispitivanje. Metod uzorkovanja i dostavljanja uzorka na pregled je vrlo bezbedan uz nužne osnovne mere zaštite i pažnje.

BAKTERIOLOŠKI PREGLED MATERJALA

Bakteriološki pregled sastoji se od: mikroskopskog pregleda materijala, zasejavanja materijala ezom na odgovarajuće hranljive podloge i identifikacije uspešno izolovanih kultura *Brucella suis*. Ovom metodom se vrlo često ne dobijaju pozitivni nalazi, pa iz iskustva predlažemo metod zasejavanja Instituta u Zagrebu. Oni preporučuju zamrzavanje uzorkovanog materijala pre zasejavanja. Pre zasejavanja se sadržaj ependorfa ili plastičnog šprica odmrzne, stavi se u kesu za „stomaher“ sa po 5 ml fiziološkog rastvora. Homogenizacija se vrši „stomaher“-om. Po 1 ml homogenata se uzima iz kesu i zasejava utrljavanjem i razmazivanjem na hranljivim podlogama u duplikatu (krvni agar, brucella agar i Farelova selektivna podloga). Ploče se zasejavaju i stavljaju u termosta na temperaturu od 37° C na normalnom atmosferskom pritisku sa 5-10% ugljen dioksida. Rast kolonija se kontroliše svakodnevno, a obično je vidljiv posle 3-7 dana.



Slika 1.2. *Brucella suis* biotip 2. VSI Požarevac, na Farelovoj podlozi

ZAKLJUČAK

Punktat epididimisa se preporučuje kao bezbedan i pouzdan uzorak od obolele životinja za izolaciju i identifikaciju *Brucella suis* biotip 2.

U toku bakteriološkog ispitivanja punktata epididimisa ustanovljeno je da rast *Brucele suis* nije ometan drugim bakterijskim vrstama.

LITERATURA:

1. Alton, G. G.: *Brucella suis*. In: Animal Brucellosis, Boca Raton: Fla. CRC Press, str. 411-423, 1990.
2. Alton G.G., Jones M., Angus Lois R.D., Verger J.M.: Techniques for the Brucellosis laboratory, Paris: INRA, 1988.
3. Bacterial infections caused by Gram-negative bacilli. Enterobacteriaceae. In: The Merck Manual, 17th ed. Edited by M.H. Beers and R. Berkow. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., 1999. <http://www.merck.com/pubs/mmanual/section13/chapter157/157d.htm>, 8. Novembar 2002.
4. Corbel M.J., Gill K.P.W., Thomas E.L.: Methods for identification of *Brucella*, Ministry of agriculture, fisheries and food UK - Research Section diseases of Breeding Department Central Veterinary Laboratory Weybridge, 1983.
5. Cvetnic, Ž., Mitak M., Ocepek M., Lojkic M., Terzic S., Jemersic L., Humski A., Habrun B., Šoštaric B., Brstilo M., Krt B., Garin-Bastuji B.: Wild boars (*Sus scrofa*) as reservoirs of *Brucella suis* biovar 2 in Croatia. *Acta Vet. Hung.* 51,465-573.76, 2003.
6. Nagl, T., Hajsig M., Madić J., Pinter Lj.: Veterinarska mikrobiologija. Zagreb: Veterinarski fakultet, 2005.
7. Rogožarski D.: Patogeneza i dijagnostika *Brucella suis* biotip 2, dok. disertacija, Novi Sad: Poljoprivredni fakultet, 2009.
8. Quinn P.J., Carter M.E., Markey B., Carter G.R.: Clinical veterinary Microbiology, Wolf Publishing, 1994.

Primljeno: 15.01.2012.
Odobreno: 20.05.2012.