

UDK 619

ISSN 1820-9955

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“
Novi Sad

Arhiv veterinarske medicine

Arh. vet. med.	vol. 5	br. 2	str. 1-88	Novi Sad, 2012.
----------------	--------	-------	-----------	-----------------

ENDOPARAZITI LOVAČKIH PASA U VOJVODINI¹

Ljubica Spasojević Kosić², Vesna Lalošević,
Stanislav Simin, Ljiljana Kuruća

Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad

Kratak sadržaj

Paraziti predstavljaju značajne etiološke faktore među infektivnim uzročnicima kod lovačkih pasa. U okviru zoonoza, parazitoze, a naročito helmintoze, izazivaju ozbiljnu zabrinutost sa aspekta javnog zdravlja. Ovo ispitivanje je sprovedeno kako bi se ispitala infestacija endoparazitima kod lovačkih pasa. Od 43 lovačka psa, privatnog vlasništva lovaca, prikupljeni su uzorci fecesa. Uzorci fecesa su pregledani na prisustvo endoparazita. Ukupna prevalenca endoparazitske infekcije kod lovačkih pasa iznosi 65,15%, a nađeno je 6 vrsta parazita: *Trichuris vulpis* (44,19%), *Ancylostoma caninum* (27,91%), *Capillaria* spp. (16,28%), *Isospora* spp. (11,63%), *Toxoacara canis* (9,30%), *Toxascaris leonina* (2,32%). Prevalenca infekcije vrstama parazita koje imaju zoonotski potencijal je 39,53%. Podaci ovog istraživanja su značajni za veterinare u kliničkoj praksi, prilikom izbora antiparazitika i odgovarajućeg režima dehelminzacije. Na ovaj način veterinarji bi imali značajnu ulogu u programu prevencije ili smanjenju širenja parazitskih infekcija.

Ključne reči: lovački psi, endoparaziti, dehelminzacija

CIP – Каталогизација у публикацији
Библиотека Матице српске, Нови Сад

619

Arhiv veterinarske medicine / glavni i odgovorni urednik
Dragica Stojanović. – Vol. 1, br. 1 (2008) –. – Novi Sad :
Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, 2008 –. – 25 cm

Dva puta godišnje.

ISBN 1820-9955

COBISS.SR-ID 235692807

¹ Rad je realizovan po projektu TR 31084 koji se finansira od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije

² E-mail: ljubicask@polj.uns.ac.rs

ENDOPARASITES IN HUNTING DOGS IN VOJVODINA

Ljubica Spasojević Kosić, Vesna Lalošević,

Stanislav Simin, Ljiljana Kuruća

Faculty of Agriculture, Department of Veterinary Medicine, Novi Sad

Abstracts

Concerning infectious diseases in hunting dogs, parasites represent an important etiological agent. Among zoonotic diseases, parasitosis, and in particular, helminthosis can cause serious public health concern. This study was performed to investigate infestations with endoparasites in hunting dogs. A total of 43 faecal samples from owned hunting dogs were collected, and were examined for the presence of endoparasites. The overall prevalence of endoparasitic infestation was 65, 15% and six species were found: *Trichuris vulpis* (44.19%), *Ancylostoma caninum* (27.91%), *Capillaria* spp. (16.28%), *Isospora* spp. (11.63%), *Toxocara canis* (9.30%), *Toxascaris leonina* (2.32%). The prevalence of endoparasites with zoonotic potential was 39.53%. These data are of importance for veterinarians in clinical practice, dealing with antiparasitic treatment and choosing appropriate antiparasitic drug for hunting dogs. Due to this, veterinarians should play an important role in helping to prevent or minimize zoonotic transmission of the parasites.

Key words: hunting dogs, endoparasites, deworming protocol

Uvod

Lovački psi su, putem kontakta sa divljim životinjama i njihovom životnom sredinom, izloženi različitim infektivnim agensima. Naročiti značaj u okviru infektivnih bolesti pasa u vezi sa lovom poklanja se opasnostima koje iz njih proizilaze po javno zdravlje. Znatan deo infektivnih oboljenja kod pasa pripada parazitskim infekcijama. U Evropi se, sa nesmanjenim interesovanjem, i dalje prati rasprostranjenost parazitskih infekcija. Opsežna ispitivanja koja su sprovedena, odnose se na nalaz jaja i larvi parazita u fecusu pasa, ali i na dlaci pasa (Avdenizöz-Ozkayhan i sar., 2008; Nagy i sar., 2011) ili na zemljištu, javnim površinama i parkovima (Rinaldi i sar., 2006; Martinez-Moreno i sar., 2007).

Potpuna analiza zdravstvenog stanja lovačkih pasa zahteva procenu postojanja svesti kod lovaca o opasnostima kojima su izloženi i ljudi i životinje tokom lova, ocenu sprovođenja preventivnih mera kod pasa od strane lovaca,

postojanje pojedinih infekcija kod pasa, definisanje rizika po zdravlje pasa i ljudi u vezi sa lovom. Analiziranje zdravstvenog stanja lovačkih pasa u našoj zemlji započeli smo ispitivanjem populacije lovaca u cilju definisanja prosečnog broja pasa po lovcu, zastupljenom tipu lova i lovištu, kao i o informisnosti lovaca o postojanju rizika za zdravlje lovačkih pasa i za zdravlje ljudi (Spasojević Kosić i Savić, u štampi).

U ovom radu su dati preliminarni rezultati o infektivnim uzročnicima – endoparazitima kod lovačkih pasa. Cilj ovog rada je da utvrdi prevalencu infekcija endoparazitima kod lovačkih pasa. Ovo istraživanje pružiće uvid u vrste parazita koje imaju klinički značaj kod pasa i zoonotski potencijal za ljude.

Materijal i metod rada

Ispitivanjem su obuhvaćena 43 lovačka psa, privatnog vlasništa lovaca sa područja Novog Sada. Vlasnici pasa - lovci - su bili upoznati sa istraživanjem. Kriterijum po kome su psi odabirani za istraživanje bio je da psi aktivno učestvuju u lov, odnosno da su u momentu pregleda imali iza sebe makar jednu lovačku sezonu. Pre nego što se pristupilo pregledu svakog psa, od vlasnika - lovaca - su uzeti detaljni podaci koji su se odnosili na uslove držanja, ishranu i negu pasa, kao i način sprovođenja preventivnih mera vakcinacije i dehelminтиzације. Svi psi su pregledani opštim kliničkim pregledom i u momentu pregleda su bili bez kliničkih simptoma oboljenja. Od svih pasa su prikupljeni uzorci fecesa. Parazitološki pregled fecesa urađen je tehnikom flotacije uz pomoć šećera (Sheather's Sugar Solution) (Dryden i sar., 2005).

Rezultati i diskusija

Od 43 lovačka psa endoparaziti su dijagnostikovani kod 28 pasa, što čini prevalencu od 65,15%. Dijagnostikovana su jaja sledećih parazita: *Trichuris vulpis*, *Ancylostoma caninum*, *Capillaria* spp., *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Isospora* spp. Kod najvećeg broja pasa (19 pasa) nađena su jaja *T. vulpis*, što čini prevalencu od 44,19%. Prevalenca *A. caninum* u ispitivanoj populaciji pasa iznosila je 27,91% (12/43). Parazit respiratornog trakta *Capillaria* spp. nađen je kod 7 pasa, što predstavlja prevalencu od 16,28%. Oociste *Isospora* spp. su nađena kod 5 pasa (prevalenca 11,63%). Askaride su takođe dijagnostikovane u ispitivanoj populaciji lovačkih pasa sa prevalencom od 9,30% (4/43) za *T. canis*, odnosno 2,32% (1/43) za *T. leonina*. Kod 14 pasa ustanovljeno je postojanje jaja različitih parazita. Kod 3 psa nađena su jaja parazita i *T. vulpis* i *Capillaria* spp., dok su jaja parazita *T. vulpis*, *A. caninum* i *Capillaria* spp. nađeni takođe kod tri psa. Kod jednog psa nađena su jaja *T. vulpis*, *T. canis*, *A. caninum* i oociste *Isospora* spp.

Naši rezultati su slični sa rezultatima drugih autora iz naše zemlje (Nikolić i sar., 2008). Istraživanjem su bili obuhvaćeni radni psi, psi kućni ljubimci i latalice, pri čemu je kod 75,5% ispitivanih pasa ustanovljena makar jedna parazitska vrsta, od čega je, kao i u našem istraživanju, u najvećem broju slučajeva identifikovano postojanje infestacije sa *T. vulpis* (47%). Ovako visoka prisutnost parazita među psima ustanovljena je i u Albaniji (Xhaxhiu i sar., 2011) sa nalazom čak do 6 vrsta gastrointestinalnih parazita po psu.

U ispitivanju grčkih autora (Papazahariadou i sar., 2007), koje je obuhvatilo ovčarske i lovačke pse nađena je prevalenca parazitizma od 26%, a dijagnostikovano je 11 vrsta parazita: *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Giardia spp.*, *Isospora (Cystoisospora) spp.*, *Ancylostoma/Uncinaria spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Alaria alata*, *Strongyloides stercoralis*, *Angiostrongylus vasorum*, *Toxascaris leonina* i *Dipylidium caninum*. Ispitivanje prisustva parazita među psima kućnim ljubimcima, psima iz prihvatišta i lovačkim psima u Španiji (Martinez – Carrasco i sar., 2007) pokazalo je prisustvo jaja parazita u fecesu kod 25% pasa. *Toxocara canis*, *Ancylostomatidae spp.*, *Toxascaris leonina* i *Isospora canis* ustanovljene su kod 6–10% pasa, dok su *Trichuris vulpis*, *Giardia lamblia* i *Dipylidium caninum* ustanovljene kod 0,4–1%. U Turskoj su kod 30,4% pasa nađene jedna ili dve vrste nematoda (*Toxascaris leonina*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Uncinaria stenocephala*) (Senlik i sar., 2006). Ispitivanja inficiranosti pasa endoparazitima u Nemačkoj su pokazala prevalencu od 32,2% (Barutzki, Schaper, 2003) odnosno 30,4% (Barutzki, Schaper, 2011). Postojala je najveća inficiranost vrstama *Gardia spp.* i *T. canis*. Slična prevalenca infekcije helmintima i protozoama (34,2%) nađena je i kod pasa u Belgiji, pri čemu su dijagnostikovani paraziti: *T. canis*, *T. leonina*, *U. stenocephala*, *T. vulpis*, cestode i oociste *Isospora* (Vanparijs i sar., 1991). Ispitivanja prisustva infekcije nematodama u odgajivačnicama u Holandiji su pokazala postojanje infekcije kod 33% odraslih pasa, pri čemu je najzastupljeniji bili paraziti *T. vulpis* i *T. canis* (Overquaauw, Boersema, 1998). Najniža prevalenca intestinalnih helminata od 5,9% nađena je u Finskoj. Koprološkim pregledom nađena su jaja *T. cains*, *U. stenocephala*, *D. latum* i *T. vulpis* (Pullola i sar., 2006).



Slika 1. Jaja *Ancylostoma caninum*



Slika 2. Jaja *Capillaria spp.* i *T. vulpis*



Slika 3. Jaja *Toxascaris leonina*



Slika 4. Jaja *Toxocara canis*

Parazitske infekcije su obično klinički signifikantne kod štenaca, pri čemu veliki broj parazita *Toxocara spp* ili *Toxascaris leonina* izaziva vomitus i dijareju. Iako ređe, ovi paraziti mogu da dovedu i do opstrukcije creva. Infekcija parazitima *A. caninum* i *U. stenocephala* najčešće kod mladih pasa izazivaju klinički značajne akutne dijareje. Infekcija *T. vulpis* se kod pasa dovodi u vezu sa pojavom hroničnog enterokolitisa, sa dijarejom koja je krvavo sluzava do profuzna i vodenasta (Sturges, 2000).

Među nađenim endoparazitima u našem istraživanju, uzročnici sa zoonotskim potencijalom, uključujući *A. caninum*, *T. canis* i *T. leonina*, su otkriveni u 39,53% slučajeva. Kod pasa sa gastrointestinalnim oboljenjima, od endoparazita sa zoonotskim potencijalom, najčešće je detektovana *Gardia spp.*, sa prevalencom od 8,4% (Batchelor i sar., 2008). Kod službenih vojnih pasa nađena je najveća prevalenca *T. canis* i *T. leonina* (Senlik i sar., 2006).

U našem ispitivanju nije ustanovljeno postojanje cestoda. Suprotno našim rezultatima, u Albaniji, glavni intestinalni paraziti bili su *T. canis* (75,7%) i *D. caninum* (65,8%) (Xhaxhiu i sar., 2011).

Iako je kod svih pregledanih lovačkih pasa primenjivana dehelminizacija (Drontal, Cestal, Dehinel) rezultati ovog istraživanja ukazuju na neadekvatan

režim dehelmintizacije kod pasa. Infekcija odraslih pasa *T. vulpis* se dešava češće kod onih paza kod kojih su za dehelmintizaciju korišćeni drugi lekovi, a ne benzimidazoli (Overquaauw, Boersema, 1998).

Redovnim ispitivanjem fecesa lovačkih pasa ispitalo bi se prisustvo endoparazita, na osnovu čega bi se preporučila adekvatna terapija. Samo ovakve mere bi predstavljale adekvatnu zaštitu zdravlja ljudi. Pored adekvatne dijagnoze i terapije parazitskih oboljenja pasa, uloga veterinara treba da se odnosi i na edukaciju lovaca u vezi sa zoonotskim rizicima parazitoza, pravilnom upotreboom antihelmintika i drugim merama kontrole parazitskih oboljenja.

U ovom istraživanju je parazitološki pregled sproveden samo jednokratnim uzorkovanjem fecesa. Da bi se potpuno isključilo prisustvo endoparazita potrebno je da tri koprološka pregleda budu negativna. Ovo ispitivanje nije bilo u stanju da pruži uvid u postojanje plućnih parazita kod lovačkih pasa. Dalja parazitološka ispitivanja, uz primenu parazitoloških metoda, kojima se mogu u fecesu identifikovati larve plućnih parazita, treba da pruže potpuniji uvid u endoparazite lovačkih pasa. Obzirom na blizak kontakt pasa sa ljudima (lovci i njihove porodice), potrebno je analizirati i druge načine širenja parazitskih oboljenja, kao što je nalaz jaja na dlaci pasa.

Zaključak

Kod lovačkih pasa je ustanovljena prisutnost endoparazita u visokom procentu (65,15%), od kojih znatan iznos čine uzročnici koji imaju zoonotski potencijal (39,53%). Potrebno je da vlasnici lovačkih pasa - lovci - primenjuju bolji program dehelmintizacije, kako bi poboljšali zdravstveni status svojih pasa i smanjili rizik infekcije ljudi.

Literatura

1. Aydenizöz-Ozkayhan M., Yağcı B.B., Erat S.: The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potential transmission route in human toxocariasis. *Vet Parazitol*, 25, 152, 1/2, 94-100, 2008
2. Barutzki D., Schaper R.: Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitol Res*, 90, Suppl 3, 148-150, 2003
3. Barutzki D., Schaper R.: Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitol Res*, 109, Suppl 1, 45-60, 2011
4. Batchelor D.J., Tzannes S., Graham P.A., Wastling J.M., Pinchbeck G.L., German A.J.: Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. *Transbound Emerg Dis*, 55, 2, 99-104, 2008

5. Dryden MW., Payne PA., Ridley R., Smith V.: Comparison of Common Flotation Techniques for Recovery of Parasite Eggs and Oocysts. *Veterinary Therapeutics*, 6, 1, 15-28, 2005
6. Martinez-Carasco C., Berriatua E., Garijo M., Martinez J., Alonso F.D., de Ybanez R.R.: Epidemiological study of non-systemic parasitism in dogs in southeast Mediterranean Spain assessed by coprological and post-mortem examination. *Zoonoses Public Health*, 54, 5, 195-203, 2007
7. Martinez-Moreno F.J., Hernandez S., Lopez-Cobos E., Becerra C., Acosta I., Martinez-Moreno A.: Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Vet Parazitol*, 19, 143, 1, 7-13, 2007
8. Nagy A., Ziadinov I., Schweiger A., Schnyder M., Deplazes P.: Hair coat contamination with zoonotic helminth eggs of farm and pet dogs and foxes. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 124, 11/12, 503-511, 2011
9. Nikolić A., Dimitrijević S., Katić-Radivojević S., Klun I., Bobrić B., Djurković-Djaković O.: High prevalence of intestinal zoonotic parasites in dogs from Belgrade, Serbia – short communication. *Acta Vet Hung*, 56, 3, 335-340, 2008
10. Overquaauw P.A., Boersema J.H.: Nematode infections in dog breeding kennels in The Netherlands, with special reference to *Toxocara*. *Vet Q*, 20, 1, 12-15, 1998
11. Papazahariadou M., Founta A., Papadopoulos E., Chlionakis S., Antoniadou-Sotiriadou K., Theodorades Y.: Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. *Vet Parasitol*, 148, 2, 170-173, 2007
12. Pullola T., Vierimaa J., Saari S., Virtala A.M., Nikander S., Sukura A.: Canine intestinal helminths in Finland: prevalence, risk factors and endoparasite control practices. *Vet Parasitol*, 140, 3/4, 321-326, 2006
13. Rinaldi L., Biggeri A., Carbone S., Musella V., Catelan D., Veneziani V., Cringoli G.: Canine faecal contamination and parasitic risk in the city of Naples (southern Italy). *BMC Vet Res*, 22, 2, 29-34, 2006
14. Senlik B., Cirak V.Y., Karabacak A.: Intestinal nematode infections in Turkish military dogs with special reference to *Toxocara canis*. *J Helminthol*, 80, 3, 299-303, 2006
15. Spasojević Kosić Lj., Savić S.: Zdravstvena zaštita lovačkih pasa, *Veterinarski glasnik*, u štampi, 2012
16. Sturges C.P.: Diseases of the alimentary tract. In: John Dunn, Textbook of small animal medicine, W.B. Saunder, 371-448, 2000.
17. Vanparijs O., Hermans L., van der Flaes L.: Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. *Vet Parasitol*, 38, 1, 67-73, 1991

18. Xhaxhiu D., Kusi I., Rapti D., Kondi E., Postoli R., Rinaldi L., Dimitrova Z.M., Visser M., Knaus M., Rehbein S.: Principal intestinal parasites of dogs in Tirana, Albania. *Parasitol Res*, 108, 2, 341-353, 2011

Primljeno: 10.11.2012.
Odobreno: 15.11.2012.

Originalni naučni rad

UDK 619:616.982.2:579.88:636.2

MIKOPLAZME KAO UZROČNICI INFEKCIJE KOD GOVEDA

Branka Vidić¹, Stanko Boboš, Sara Savić, Živoslav Grgić
Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad

Kratak sadržaj

Poslednjih godina više od 20 vrsta mikoplazmi iz roda *Mycoplasma*, *Ureaplasma* i *Acholeplasma* izolovano je kod goveda sa različitom kliničkom slikom bolesti. Većina vrsta ima sekundarnu ulogu u nastajanju infekciji, za razliku od *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) koja ima primarnu ulogu u infekciji kod goveda. Dokazano je da je *M. bovis* veoma čest uzročnik pneumonije, mastitisa i artritisa kod krava. Osim toga, *M. bovis* je dokazan kao uzročnik meningitisa, zapaljenja srednjeg uha, keratokonjuktivitisa, dekubitalnih apscesa, vaginitisa i pobačaja kod krava. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike i dokazivanja uzročnika, bilo da se radi o pojedinačnim grlima ili na nivou zapata. Koriste se metode kultivacije uzročnika, fluorescentni test za dokazivanje antiga iz patološkog materijala, kao i nalaz specifičnih antitela primenom više različitih seroloških metoda: brza aglutinacija na pločici, indirektna heminhibicija, agar-gel imunodifuzija, RVK, ELISA i dr. Lančana reakcija polimeraza (PCR) je veoma osetljiv metod koji se sve više koristi za potvrđnu etiološku dijagnostiku. Za razliku od većine bakterijskih infekcija terapija kod infekcija izazvanih mikoplazmama je veoma zahtevna uz postojanje rezistencije prema najčešće korišćenim antibioticima. *M. bovis* je jedan od najtežih od ovih agenasa za kontrolu jer slabo reaguje na lečenje. Dobar program suzbijanja oboljenja izazvanih mikoplazmama podrazumeva blagovremeno otkrivanje kliconoša i njihovo uklanjanje iz stada.

Ključne reči: mikoplazme, goveda, dijagnoza, kontrola

¹ E-mail: branka@niv.ns.ac.rs

MYCOPLASMA AS THE CAUSE OF INFECTIONS IN CATTLE

Branka Vidić, Stanko Boboš, Sara Savić, Živoslav Grgić

Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad

Abstract

During the last few years more than 20 different types of *Mycoplasma*, *Ureaplasma* and *Acholeplasma* microorganisms have been isolated from cattle with different clinical signs. Most of *Mycoplasma* microorganisms have a secondary role in the appearance of infection in cattle. Differently, *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) has a primary role in the infection of cattle. It has been proved that *M. bovis* frequently causes pneumonia, mastitis and arthritis in cows. Besides, *M. bovis* is identified as a causative agent in meningitis, middle ear infection, keratoconjunctivitis, decubitus abscesses, vaginitis and miscarriages in cows. Diagnostic was done based on the clinical signs and detection of the causative agent, in individual animals and in the herds as whole. The methods used for diagnostic can be cultivation of the causative agent or fluorescence test for antigen detection in pathological material. Also, the detection of specific antibodies can be done, applying different serological methods: fast agglutination on a plate, indirect hemiinhibition, agar gel immunodiffusion, CF, ELISA, etc. Polymerase chain reaction (PCR) is a sensitive method which is mostly used for confirmatory etiological diagnostic. The treatment of *Mycoplasma* infection is very demanding due to the resistance to most frequently used antibiotics and therefore very different from treating any other bacterial infection. *M. bovis* is one of the most complicated agents for control as its response to the treatment is weak. A good program for eradication of mycoplasmosis is based on early carrier detection and they are excluded the herds.

Key words: mycoplasma, cattle, diagnosis, control

UVOD

Sve mikoplazme svrstane su u klasu *Mollicutes* (*mollis* - mekan, *cutis* - koža), a vrste su podjeljene u četiri reda: *Mycoplasmates*, *Entoplasmates*, *Acholeplasmates* i *Anaeroplasmates*. Do danas je izolovano više oko 160 vrsta mikoplazmi. Većina vrsta patogenih za domaće i divlje ptice i sisare spadaju u familiju *Mycoplasmataceae*, rodove *Mycoplasma* i *Ureaplasma*. Mikoplazme su najmanji prokariotski mikroorganizmi, koji se mogu samostalno razmnožavati na veštačkim hranljivim podlogama. Mikoplazme u svom sastavu imaju i

RNK i DNK. Iako su po pojedinim osobinama slične virusima (veličina, filtrabilne su i imaju sposobnost hemaglutinacije), po nekim gljivicama (stvaraju filament), kao mikroorganizmi sa sopstvenim metabolizmom koji se i samostalno razmnožavaju, mikoplazme se ubrajaju u bakterije. Građene su od jedarne strukture, citoplazme, ribozoma, ponekad i plazmida, a spolja se nalazi citoplazmina ovojnica. Zbog nedostatka ćelijskog zida, mikoplazme su osjetljive na osmotski pritisak, alkohol, delovanje antitela i komplementa, a otporne na penicillin i druge antibiotike koji deluju na ćelijski zid. Slabo se boje po Gramu, a bolje po Giemsi. Izolacija mikoplazmi iz kliničkih materijala je složena i zahtevna. Teško se uzgajaju na hranljivim podlogama, i za rast zahtevaju obogaćene i selektivne podloge koje sadrže specifične faktore rasta. Podloge se inkubiraju na 37°C sa ili bez CO₂, uz visoku vlažnost, tokom 10 dana. Tako na PPLO agaru nakon 3-7 dana izrastu male kolonije promera oko 1 mm, sa karakterističnim izgledom jajeta na oko. Lančana reakcija polimeraza (PCR) je veoma osjetljiv metod koji se sve više koristi za potvrdu etiološku dijagnostiku (Pflitsch, 1994; Razin, 1994). U identifikaciji vrsta mogu se koristiti više metoda: direktna i indirektna fluorescencija, RVK, ELISA, PCR.

Poslednjih godina više od 20 vrsta mikoplazmi iz roda *Mycoplasma*, *Ureaplasma* i *Acholeplasma* je izolovano kod goveda sa različitom kliničkom slikom bolesti (Henderson i Ball, 1999). Većina vrsta mikoplazma imaju sekundarnu ulogu u nastajanju infekcija kod goveda, za razliku od *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) koja ima primarnu ulogu u infekciji kod goveda. Dokazano je da je *M. bovis* veoma čest uzročnik pneumonije, mastitisa i artritisa u krava (Gonzales i sar., 1993; Smith, 1996). Osim toga, *M. bovis* je dokazan kao uzročnik meningitisa, zapaljenja srednjeg uha, keratokonjuktivitisa, dekubitalnih apscesa, vaginitisa i pobačaja kod krava (Rebhun, 1995). Pitanje primene terapije kod obolelih treba posmatrati sa nekoliko aspekata i naučnih saznanja koja danas postoje. Terapija u nekim slučajevima može biti efikasna u smislu smanjenja težine kliničkih simptoma, koji se ponovo pogoršavaju nakon prestanka terapije, ali kod životinja sa uznapredovalom kliničkom slikom ne očekuju se značajna poboljšanja. Teška klinička slika, i hronični artritis su stanja kod kojih se preporučuje uklanjanje životinja.

Epidemiologija

M. bovis je dobro prilagođena i naseljava sluzokože respiratornog, urogenitalnog trakta, mlečne žlezde, gde može da opstaje bez pojave kliničke slike bolesti. Sluzokoža gornjih respiratornih puteva je primarno mesto za kolonizaciju *M. bovis* kod goveda. Bez obzira na način zaražavanja, *M. bovis* se može tokom rane infekcije izolovati iz mnogih delova tela, naročito iz gornjih partijsa respiratornog trakta, mlečne žlezde, konjuktiva i urogenitalnog trakta.

Sluzokoža respiratornog trakta i mlečna žlezda predstavljaju najvažnija mesta održavanja i izlučivanja *M. bovis*. Iako većina goveda izlučuje *M. bovis* tokom nekoliko meseci, neka goveda mogu da izlučuju *M. bovis* povremeno tokom više godina. Faktori odgovorni za povremeno izlučivanje nisu još otkriveni. Goveda sa kliničkim simptomima bolesti, obično izlučuju jako veliki broj *M. bovis*. Stresni događaji, kao što su transport, ulazak u tovilište, hladnoća, povezani su sa povećanjem izlučivanja *M. bovis* iz nosa. Hronično inficirane jedinke bez kliničkih simptoma, koje povremeno izlučuju *M. bovis*, su značajne u epidemiologiji infekcije, posebno za održavanje *M. bovis* u stadu i predstavljaju rizik kod unosa u čiste zapate krava (Boboš i Vidić, 2005).

M. bovis se luči, pre svega, preko mleka, respiratornog i genitalnog trakta. Može se prenositi i preko sperme bika. Telad i junad izlučuju *M. bovis* preko organa za disanje tokom dugog vremenskog perioda i predstavljaju rezervoar uzročnika. Horizontalno prenošenje infektivnog agensa preko respiratornog trakta kod ovih životinja ima veliki značaj. *M. bovis* se može preneti sa inficirane krave intrauterino na fetus ili post partum na novorođeno tele. Uzročnik se naseljava u disajnom aparatu teladi i ostaje тамо, živ i infektivan, do polne zrelosti životinje, čak i do prvog teljenja. Kako tada dolazi do infekcije vime na, nije još u potpunosti jasno (Boboš i Vidić, 2005). Neki autori posmatraju respiratorni i genitalni trakt kao mesto generalizacije infekcije, koja se zatim kod krava manifestuje kao mastitis, a kod teladi kao artritis. Promet inficiranim, klinički zdravim mladim životinjama je, pre svega, odgovoran za širenje infekcije *M. bovis* na druge zapate.

Pneumonija

Mikoplazme su uzročnici dva tipa pneumonije kod goveda: kontagiozne pleuropneumonije kod goveda i enzootske pneumonije kod teladi. Kontagiozna pleuropneumonija je teško infektivno oboljenje koje prouzrokuje *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Enzootsku pneumoniju izazivaju bakterije vrste *Mycoplasma spp.* kada mogu biti primarni uzročnik ili zajedno sa drugim virusima i bakterijama. Vrlo često infekciju prate parainfluenza 3 virus (PI₃), govedi herpes virus (IBR) i govedi respiratorni sincicijalni virus (BRSV), a od bakterija *Histophilus somni* (*H. somni*), *Pasteurella multocida*, (*P. multocida*), *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*). Najčešće infekciju primarno započinju virusi. Iz promenjenih delova pluća sa pneumoničnim promenama može biti izolovano nekoliko vrsta mikoplazmi, ali samo neke od njih imaju patogeno dejstvo, a to su *M. dispar*, *M. bovis*, *M. bovirhinus*, *M. bovigenitalium*, *Ureaplasma diversum*. Sa izuzetkom *M. bovis*, ostale mikoplazme mogu se naći i kao normalna flora u gornjim respiratornim partijama. Promene na

plućima nastaju kao posledica kolonizacije parenhima pluća mikoplazmama i oštećenjem mukocilijskog epitela, kao i slabljenjem imuniteta (Ellis, 2001). Rezervoari infekcije su obolele životinje, a infekcija se u zapatu unosi preko životinja klicnoša. Takve životinje izlučuju mikoplazme nosnim sekretom više meseci i godina, a da ne pokazuju kliničke simptome bolesti. Klinički simptomi kod goveda su najčešće kašalj, provociran stresom ili naporom, ubrzano disanje, povišena temperatura, bezvoljnost. Na obdukciji se uočavaju patološke promene na kranoventralnim delovima pluća, čiji izgled zavisi od starosti procesa. Najčešće su te promene u vidu crveno-plavih mramornih područja, nekad hepatizovana, a na preseku se uočava gnojni sadržaj. Histološki, uočavaju se znaci hronične bronhoalveolarne pneumonije, koja se karakteriše peribronhijalnom i perivaskularnom limfocitarnom infiltracijom, gnojni bronhiolitis, sa nakupinama neutrofila i makrofaga u lumenu alveola, epithelializacija alveolarnih pegrada i atelektazije.

Definitivna dijagnoza se postavlja izolacijom uzročnika nakon uzimanja bronhoalveolarnog lavaža, uzimanjem tečnosti ili delova tkiva pluća. Primernom fluorescentnog testa dokazuje se antigen iz ispitujućih uzoraka. U terapiji se preporučuje aplikacija oksitetraciklina, eritromicina, tilozina, enrofloksacina i fluorfenikola. Enzotska pneumonija je multifaktorijsko oboljenje, tako da težinu i ispoljavanje intenziteta kliničke slike utiču i neki drugi faktori: uslovi držanja, ishrana, stres i slično (Boboš i Vidić, 2005). U tovilištu gde imamo saznanja da je prisutna infekcija *M. bovis*, antibiotici se mogu koristiti profilaktički, kako bi se sprečilo nastajanje ozbiljnih kliničkih simptoma. Antibiotici su skupi i njihova upotreba treba da bude racionalna i realno procenjena u svakoj situaciji, ali njihova primena u početnoj fazi infekcije je od ključnog značaja za efikasnost. Takođe je važno da se koristiti propisana doza leka, jer neadekvatno lečenje može da dovede do recidiva oboljenja (Nicholas i Ayling, 2003).

Na tržištu postoji nekoliko vakcina i one mogu biti veoma efikasne, ali to zavisi od infektivnog statusa i patologije u zapatu (Nicholas i sar., 2000). Vakcinacija je neophodna kod remonta stada, pre svega u zapatima sa visokom seroprevalencijom, potrebno je novonabavljeni grla vakcinisati. Vakcinacijom zaraženih ili obolelih životinja smanjuje se intenzitet kliničke slike, težina oboljenja, ali se infekcija ne može suzbiti. S obzirom da u jednom zapatu postoje značajne individualne razlike u osetljivosti na infekciju i stanje imuniteta, neophodno je primenjivati kombinaciju više metoda, kao što je kontrola uslova uzgoja, odnosno menadžmenta na farmi - vakcinacija, lečenje, da bi kontrola ove infekcije dala odredene rezultate (Nicholas i Ayling, 2003).

Mastitis: Više vrsta *Mycoplasma spp.* mogu biti uzročnici mastitisa kod krava, ali je *M. bovis* najzastupljenija u mnogim zemljama (Filioussis i sar., 2003). Bolest se širi brzo u zapatu, tako da više krava u kratkom vremenu

pokazuju znake mastitisa, na jednoj ili više četvrti vimena. Kod krva u laktaciji uglavnom su zahvaćene sve četvrti vimena. Na takvim farmama javljaju se i problemi kod životinja na zglobovima, reproduktivne smetnje, pneumonija kod teladi i respiratorne smetnje kod odraslih grla. Krave sa akutnim mikoplazmatskim mastitisom imaju drastičan pad mlečnosti. Zahvaćene četvrti vimena su tople, otečene i svetlobraon boje. Na dodir parenhim mlečne žlezde je čvrste konzistencije i često sa čvorovima. Mleko iz zahvaćenih četvrti vimena ima normalan izgled, ali se jako brzo izdvaja grudvičast talog i bistar supernatant (Filioussis i sar., 2007). Pored akutnog mastitisa u zapatu se registruju i hronični mastitisi, intermitentne akutne epizode ili subkliničke infekcije kod jedinki. Kod krava sa subkliničkom infekcijom, proizvodnja mleka može da se vrati u normalno stanje, ali one i dalje izlučuju mikoplazme u mleku. Mikoplazme mogu da se prenose mehanički preko ruku, mašina za mužu i rastvora za pranje vimena (Fox i sar., 2005). Mikroskopski, akutnu infekciju karakteriše infiltracija neutrofila u intesticijum lobula, degeneracija i nekroza alveolarnog epitela i nakupljanje neutrofila u alveolima, što je praćeno pojavom abscesa (Byrne i sar., 2005). Kod subakutnih stadijuma, makrofagi dominiraju kao češće zapaljenske reakcije. Kod hroničnih mikoplazmatskih mastitisa karakteristična je hiperplazija alveolarnog epitela, nakupljanje limfocita u intersticijumu, intersticijalna fibroza i lobularna atrofija.

Za postavljanje dijagnozu vrši se kulturelno ispitivanje mleka. Kao i kod drugih infekcija izazvanih mikoplazmama, mikoplazmatski mastitis se teški leči. Zbog toga se uvek preporučuje preventiva u smislu pranja sisa, terpija zasušenih i krava u laktaciji, održavanje mašina za mužu i drugo. Kada se jednom ustanovi mikoplazmatski mastitis u stadu, neophodna je identifikacija inficiranih grla i njihovo strogo odvajanje, jer je bolest visoko infektivna i često rezistentna na terapiju. Trenutno ne postoji efikasna medikamentozna terapija za mikoplazmični mastitis, iako se zna da su neki antibiotici delotvorni *in vitro* – oksitetraciklin, tiamulin, tilozin, linkomicin, spektinomicin (Nicholas i Ayling, 2003). Zbog prirode infekcije, lečenje hronično obolelih životinja je često nezahvalan posao. Antibiotik, bez obzira koliko je dobar, ne može da prodre i obnovi organe koji su pogodjeni teškim hroničnim bolestima. U praksi se zbog toga retko pribegava medikamentoznoj terapiji. Uklanjanje životinja sa pozitivnim nalazom na mikoplazme je put ka eliminaciji infekcije iz zapata (Boboš i Vidić, 2005).

Artritis: Pojava mikoplazmatskih artritisa je očekivana u zapatima krava sa enzootskim mikoplazmatskim mastitisima i pneumonijama, jer se mikoplazmatski artritis javlja uglavnom sekundarno kod inficiranih goveda zbog hematogenog širenja uzročnika (Gonzales i sar., 1993). Evidentan klinički znak mikoplazmatskog atritisa je naglašena hromost (Stokka i sar., 2001). Hromost koju izaziva *M. bovis* je tipično rezultat poliartritisa i tendosinovitisa.

Kod životinja se javlja bol prilikom pokreta i na dodir zahvaćenih zglobova. Zglobovi su topli na dodir i u njima se oseti tečnost. Pregledom se uočava fibrinozni sinovitis sa prisutnim oštećenjima na hrskavici. Kapsule napadnutih zglobova su napunjene mutnim, krem obojenim eksudatom koji često sadrži delove fibrina.

Za etiološku dijagnozu uzimaju se uzorci tkiva ili sinovijalna tečnosti. Terapija se odvija prema protokolu bilo kog septičnog artritisa. Preporučuje se ispiranje zahvaćenih zglobova tokom 1-2 nedelje. Koristi se lokalna antibiotika terapija. Sistemska antibiotika terapija se takođe preporučuje jer se artritis uglavnom javlja zajedno sa mikoplazmatskim mastitisima i pneumonijama. Treba imati na umu da *Mycoplasma spp.* daju vrlo loš odgovor na antibiotsku terapiju. Antibiotici efikasni kod šepanja izazvanog mikoplazmama su dano-floxacin, enrofloxacin i tilozin.

Mikoplasmoza je ozbiljan zdravstveni i ekonomski problem u tovilištu junadi, i kod muznih krava kao uzročnik mastitisa. Terapija je komplikovan proces bez zagarantovanih pozitivnih rezultata. Oboljenje je zarazne prirode, širi se u zapatu, pa se mora držati stalno pod kontrolom. S obzirom na ove činjenice, mikoplasmoze se obično nalaze kao hronična oboljenja kod goveda i to u formi mastitisa i artritisa.

LITERATURA

1. Byrne, W., Markey B., McCormack R., Egan J., Ball H., Sachse K.: Persistence of *Mycoplasma bovis* infection in the mammary glands of lactating cows inoculated experimentally. *Vet. Rec.*, 156, 767–771, 2005.
2. Boboš S., Vidić B.: Mlečna žlezda preživara, morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005.
3. Ellis J.A.: The immunology of the bovine respiratory disease complex: *Vet Clin North Amer-Food Anim Prac* 17, 3, 535-550, 2001.
4. Enzootic Pneumonia of Calves. *Inf Dis of Cattle: Veterinary Learning Systems Co., Inc.* 1993.
5. Filioussis G, Christodoulopoulos G., Thatcher A., Petridou V., Bourtsi-Chatzopoulou E.: Isolation of *Mycoplasma bovis* from bovine clinical mastitis cases in Northern Greece *The Veterinary Journal* 173, 215–218, 2007.
6. Fox, L. K., Kirk J. H., Britten A.: Mycoplasma mastitis: A review of transmission and control. *J. Vet. Med. B, Infect. Dis. Vet. Public Health* 52, 153–160, 2005.
7. Gonzalez, R.N., Jayarao B.M., Oliver S.P., Sears P.M.: Pneumonia, arthritis and mastitis in dairy cows due to *Mycoplasma bovis*. In: Proc. 32nd Annual Meeting of the National Mastitis Council, pp 178-186, 1993.
8. Gonzalez, R.N., Wilson, D.J.: Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 19, 199–221, 2003.

9. Henderson J.P., Ball H.J.: Polyarthritis due to *Mycoplasma bovis* infection in adult dairy cattle in Northern Ireland. *Vet Record* 145, 13, 374-376, 1999.
10. Nicholas R, Baker, R, Rayling, R et al: Mycoplasma infections in growing cattle. *Cattle Practice* 8, 2, 115-118. 2000.
11. Nicholas, R. A., Ayling R. D.: *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. *Res. Vet. Sci.* 74, 105-112, 2003.
12. Pflitsch, A: Detection of *Mycoplasma bovis* by the use of Polymerase Chain Reaction (PCR). Doctoral thesis. Hanover: Veterinary School, 1994.
13. Razin S.: DNA probes and PCR in diagnosis of mycoplasma infections. *Mol Cell Probes*, 8, 497-511, 1994.
14. Rebhun W: Diseases of Dairy Cattle. Media, PA, Lippincott Williams and Wilkins, 1995.
15. Smith B: Large Animal Internal Medicine, 2nd ed. 1996.
16. Stokka G.L., Lechtenberg K., Edwards T. et al: Lameness in Feedlot Cattle. *Vet Clin North Amer-Food Animal Practice* 17, 1, 196-202, 2001.

Primljeno: 11.09.2012.

Odobreno: 01.11.2012.

Originalan naučni rad

UDK 614.777:639.11(497.113)

UTVRĐIVANJE GENOTOKSIČNOSTI VODA NA NEKIM LOKALITETIMA ZA NAPAJANJE DIVLJAČI U LOVIŠTIMA VOJVODINE^{1*}

Slavica Košarčić¹, Mira Kovačević¹, Dubravka Milanov¹,
Dejan Bugarski¹, Bojana Prunić¹, Nada Plavša²

¹Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad

²Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Kratak sadržaj

Životna sredina je danas opterećena raznim biotičkim i abiotičkim faktorima koji utiču na procese živih organizama. Neki agensi, koji dospevaju u prirodne vodotokove, su genotoksični. To znači da utiču na genom i tokom mitoze i mejoze dovode do numeričkih i strukturnih promena u kariotipu. Istraživanja o stepenu genotoksičnosti voda sprovedena su na nekim lokalitetima u lovištima Vojvodine. Odabrana su tri lokaliteta u Sremu, Bačkoj i Banatu gde je uzorkovana voda na različitim nivoima navedenih staništa i za svako mesto je sačinjen zbirni uzorak. Metodom genotoksičnog testa Allium cepa i na kulturama limfocita sisara analizirane su citološke i citogenetičke promene u mitozi. Dobijeni rezultati ukazuju da je različit stepen genotoksičnosti voda i da zavisi od nivoa zagađenja životnog okruženja. Lovište iz Srema se nalazi u šumi gde su vodenii resursi nezagađeni što je uticalo na rezultate testova koji su pokazali da je citogenetski nalaz uredan. Genotoksičnost voda je utvrđena na lokalitetu u Bačkoj gde je okruženje kanala dostupnog za napajanje divljači okruženo zagađenim zemljишtem. Ovde su otkrivene promene u deobi ćelija kao i numeričke i strukturne u genomu. Banatsko lovište se nalazi u ataru, nije uočeno zagađenje, a citogenetičkom analizom otkrivene su promene na citološkom nivou koje nisu statistički značajne. Istraživanja je potrebno nastaviti i proširiti, jer ovaj obim nije dovoljan, ali je ukazao da genotoksičnost voda u lovištima postoji.

Ključne reči: lovište, voda, genotoksičnost, citogenetske promene

^{1*} Rad je rezultat istraživanja na projektu Ministarstva prosvete i nauke RS, TR 31084.

¹E-mail: slavica@niv.ns.ac.rs

DETERMINING WATER GENOTOXICITY AT SOME SITES ON HUNTING GROUNDS IN VOJVODINA

Slavica Košarčić,¹ Mira Kovačević¹, Dubravka Milanov¹,

Dejan Bugarski¹, Bojana Prunić¹, Nada Plavša²

¹Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad

²Faculty of Agriculture, Novi Sad

Abstracts

Various biotic and abiotic factors are present in ecosystem and they influence the processes of living organisms. Some agents that come into natural waterways are genotoxic. They affect genome and during mitosis and meiosis, and cause numerical and structural changes in karyotype. A research on the degree of genotoxicity on water was carried out on some hunting grounds in Vojvodina. Three sites were selected in Srem, Banat and Backa and water was sampled at different levels of the above mentioned habitats. A cumulative sample was made for each site. Cytological and cytogenetic changes in mitosis were analyzed on the lymphocyte mammalian samples applying Allium cepa genotoxic test. The obtained results point out that the toxicity of water is of different degree and depends on the level of environmental pollution. The hunting ground in Srem is located in the forest where water resources are not polluted, what affected the results showing favorable cytogenetic findings. Genotoxicity of water was detected in Backa where the channel, available to the game, is surrounded by contaminated ground. The changes in cell division were detected, as well as numerical and structural changes in the genome. Banat hunting ground is located in the fields. No contamination was observed. Changes in cytological level that were detected by cytogenetic analysis were statistically not significant. Further and expanded research is needed, as the applied scope of this work proved to be insufficient. However, it indicates the presence of water genotoxicity on hunting grounds in Vojvodina.

Key words: hunting ground, water, genotoxicity, cytogenetic changes

UVOD

Genotoksičnost podrazumeva uticaj raznih štetnih biotičkih i abiotičkih faktora na strukturu i funkciju genetskog materijala koji se menja kroz pojave narušenih faza deobe ćelija u mitozi i mejozi kao i numeričke i strukturne promene u kariotipu. Današnji savremeni svet zbog načina organizovanja društva i stvaranja profita opteretio je životnu sredinu raznim genotoksičnim agensima koji dospevaju u staništa i uključuju se u ekosisteme. Životni uslovi, gde spada i voda u svim svojim pojavnim oblicima, narušeni su i to se manifestuje kroz promene u genomu živih organizama. Genotoksičnost voda je moguća, jer je utemeljena u činjenici da u prirodne vodotokove dospevaju razne štetne materije koje mogu uticati na nestabilnost genetskog materijala u ćeliji, kako vodenih organizama tako i terestričnih koji su u kontaktu sa prirodnim vodotokovima. Često su ove količine ispod nivoa detekcije, ali dugoročnim delovanjem utiču na genom izazivajući razne promene. Osnovni preduslov zaštite naslednog materijala biljnog, animalnog i humanog je uspostavljanje sistema praćenja i kontrole delovanja genotoksičnih agenasa (Košarčić et al 2003).

Cilj ovog rada je utvrđivanje stepena genotoksičnosti voda na različitim lokalitetima u lovištima Vojvodine.

MATERIJAL I METODE

Za utvrđivanje genotoksičnosti voda odabrana su tri lokaliteta u lovištima Vojvodine gde se divljač slobodno kreće i gde ta voda može da posluži za napajanje. S obzirom da je područje Vojvodine široko, odabrana su neka lovišta iz Srema, Bačke i Banata. Uzimani su uzorci voda sa različitih mesta i nivoa od površnog do nivoa dna i tako je za svaki lokalitet sačinjen zbirni uzorak. Genotoksičnost je moguće utvrditi poznatim testovima koji su registrovani kao: Ames Test, Green Skreen HC Genotoxicity Test, *in vitro* micronucleus test i test Allium cepa, kao i provera genotoksičnosti u kulturama ćelija i na limfocitima sisara. U ovim istraživanjima korišćen je test Allium cepa (Fiskesjo et al., 1988) i citogenetička kontrola u kulturama ćelija. Allium test je veoma jednostavan ali pouzdan način proučavanja delovanja hemijskih agenasa iz vode na genom. Pouzdanost je dokazana u komparaciji sa drugim testovima tokom dugogodišnje primene. Ovaj test omogućuje praćenje hromozoma tokom mitoze i eventualni rizik od numeričkih promena, kao i oštećenja genetičkog materijala na hromozomskom nivou u smislu kinetike, separacije, strukture i organizacije hromozoma, kao i promena u mitotskom ciklusu. Prema zvaničnom protokolu za ovaj test je potrebno odabratи zdravih 12 lukovica crnog luka veličine 15–20 mm, težine 2–4 g citogenetske formule 2n=16, kao i posude sa tečnošću i materijalom za zamraćivanje zbog korenskog sistema. Nakon dva dana formira se koren i tada odabere po pet lukovica za kontrolu koje nastavljaju rast u destilovanoj vodi, a drugih pet u uzorkovanoj vodi čiju genotoksičnost proveravamo. Posle 24 h od odsečaka korenčića uz maceraciju, fiksaciju i bojenje 2% aceto-orceinom dobijamo preparate za mikroskopiranje hromozoma i pratimo promene u mitosi kontrolnih i eksperimentalnih lukovica.

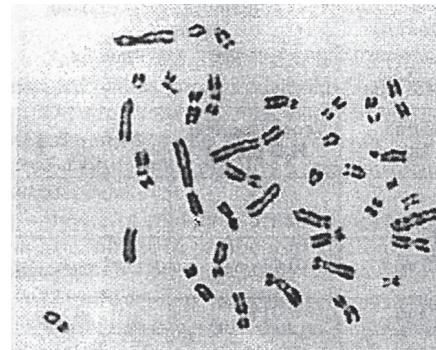
Iz uzorkovane vode hemijskim putem su identifikovani potencijalni genotoksići koji su injektovani u kulture ćelija MDBK PK15, koje su obrađene i pripremljene za citogenetsku analizu metodom (Seabright et al., 1971). Hromozomi su analizirani metodom za Međunarodnu kariotipizaciju (ISCENDA 1990). Mikrofotografije su urađene na mikroskopu Olympus BX 40.

REZULTATI I DISKUSIJA

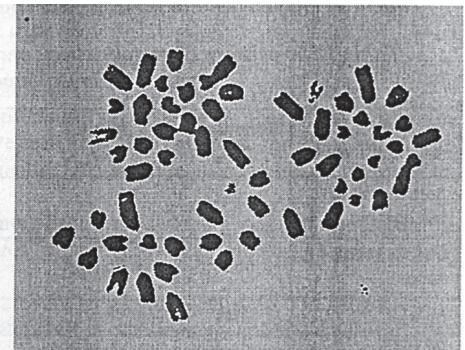
Tokom istraživanja utvrđeno je da su vode iz odabranih lokaliteta različitog stepena zagađenja što se odražava na genotoksičnost. U uzorku vode iz bare koja se nalazi u blizini reke Studve, u šumi gazdinstva Morović, nisu otkrivene promene tokom mitotske aktivnosti ćelija u ćelijama korena Allium cepa i ćelijama kultura sisara. Citogenetski nalaz je uredan bez numeričkih i strukturalnih promena (Sl. 1).



Slika 1. Normalna anafaza u deobi Allium cepa



Slika 2. Normalan kariotip $2n=38XY$, kultura ćelija, Gimsa, 1000X



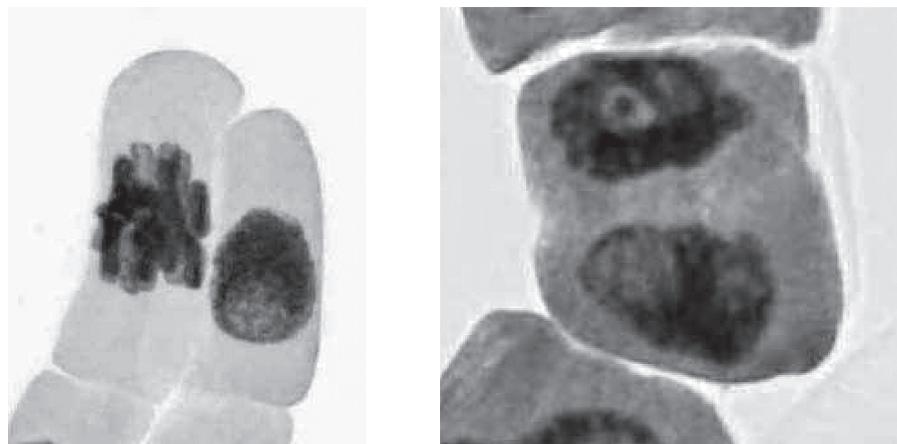
Slika 3. Normalan kariotip $2n=60XY$, kultura ćelija, Gimsa, 1000X

Dobijeni rezultati genotoksičnosti voda iz kanala u lovištu Begečkog atara ukazuju na prisustvo genotoksičnih agenasa u zbirnom uzorku poreklom sa različitim mesta i nivoa ovog vodotoka koji protiče kroz atar i okružen je divljim deponijama.

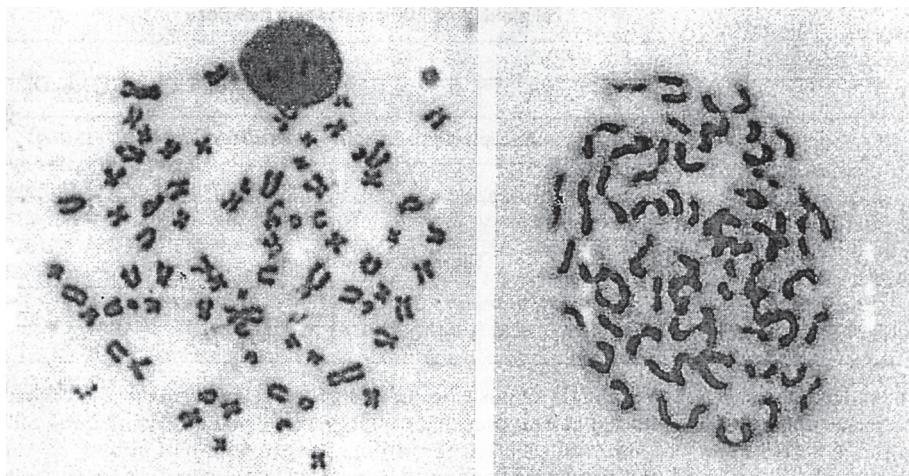


Slika 4a i 4b. Anafaza sa hromozomskim mostovima u ćeliji korena luka





Slika 5a i 5b. Aglutanacija u metafazi u ćeliji korena luka



Slika 6. Poliploidija $2n+76XYXY$

Slika 7. Segregacija hromozoma

Rezultati Allium testa su dobijeni utvrđivanjem i analizom mitotske aktivnosti (indeks mitoze) meristemskih ćelija korena luka, odnosno frekvencijom pojedinih faza mitoze na osnovu analize po dva preparata za kontrolne tretmane i po tri preparata za svaki eksperimentalni tretman. Mitotski indeks je iskazan postotkom ćelija u deobi u odnosu na ukupan broj analiziranih ćelija. Frekvencija pojedinih faza mitoze izražena je apsolutnim brojem i postotkom u odnosu na ukupan broj ćelija u deobi.

U daljoj citogenetičkoj analizi observirane su eventualne promene strukture i kinetike hromozoma tj. iregularnosti na nivou ćelija i hromozoma tokom

svih faza ćelijskog ciklusa. Uočene su promene tipa hromozomskih mostova i aglutinacije hromozoma i to iznad tolerantnih 2%, a takođe je slabiji mitotski indeks (Slike 3-5). Rezultate istraživanja genotoksičnosti i slične manifestacije u ćelijskim deobama iznela je grupa autora za test Allijum cepa (Grant WF et al., 1982, Fatić et al., 2008). Numeričke i strukturne promene tipa poliploidije i segregacije hromozoma otkrivene su u kulturama limfocita ćelija sisara (Slika 6, 7). Citogenetičkom analizom kultura biljnih i animalnih ćelija sa navedenih lokaliteta lovišta u Banatu otkrivene citološke promene nisu statistički značajne, jer se kreću u nivou do 2%.

ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Tokom istraživanja dobijeni rezultati ukazuju da postoji genotoksičnost voda i da se manifestuje kroz citološke promene u mitotskim fazama. Genotoksičnost utiče na status kariotipa, jer su na jednom lokalitetu otkrivene numeričke i strukturne promene u genomu. Stepen citogenetskih promena direktno zavisi od stepena opterećenja vodotokova štetnim agensima. Istraživanja je neophodno nastaviti.

LITERATURA

1. Grant W.F. : Chromosome aberration assay in Allium, A report of the U. S. Environmental Protection Agency Gene- Tox Program, Washington. *Mutat. Res.* 99, 273-291, 1982.
2. Di Berardino D., Hayes H., Frigs K.Long: ISCENDA Cytogenet.Cell.Genet.1990.
3. Fatić A: Istraživanje Genotoksičnih efekata sirovog ekstrakta biljke Calendula officinalis L. *Veterinarija* , 57, 3-4, 159 -336, 2008.
4. Fiskejo G.: The Allium test-on alternative in environmental studies. The relative toxicity of metal ions, *Mutation Research*, 197, 243-260, 1988.
5. Košarčić S., Kovačević M., Stojanović D., Milanov D.: Utvrđivanje genotoksičnosti otpadnih voda na mestima proizvodnje namirnica animalnog porekla. U: Zbornik radova, Međunarodna konferencija, Otpadne vode, komunalni čvrsti otpad i opasan otpad, 102-107, 2003.
6. Seabright M.: A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*, 2, 971-972, 1971.

Primljeno: 15.10.2012.

Odobreno: 01.11.2012.

BACTERIA IN ANIMAL FEED AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIAL DRUGS^{1*}

Igor M. Stojanov², Milica M. Živkov Baloš, Miloš C. Kapetanov,
Jasna Z. Prodanov Radulović, Jelena M. Petrović
Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad, Serbia

Abstract

Control of microbiological safety of animal feed is regulated by a law. The regulation is based on methodological standards for estimation of feed quality. Those methods are permanently amended and strive for continuous improvement of microbiological safety of feed. The question remains whether the presence or absence of some bacterial species is sufficient for proper assessment of feed safety. The answer to this question can be found not only in the examination of the number of bacteria in animal feed, but also in qualitative analysis of the isolated microorganisms. The sensitivity of bacteria from animal feed to antimicrobials is one of the qualitative characteristics of microorganisms that can affect food safety even if the feed meets the standards and is within the maximum permitted level. The subject of our work was to determine the presence of bacteria in animal feed with a purpose to examine if they possess lower sensibility to antibiotics. *For testing antibiotic sensitivity* the isolates from routine microbiological feed control were used. The animal feed was analysed by the standard methods for the isolation and identification of bacteria and determination of susceptibility was done using disc diffusion method according to CLSI. The following bacteria were detected: *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp. The results showed that some isolates have reduced susceptibility to certain antimicrobial drugs (The resistance is different for different antibiotics and microorganism - from 8,33% to 100%). This finding gives a reason for further examination of certain characteristics of the bacteria found in animal feed and to detect their possible influence on ecology.

Key words: animal feed, bacteria, antimicrobial drugs

¹ Research was financed by the Ministry of Science and Technological Development, Republic of Serbia, project TR 31071.

The article is presented at 6th Central European Congress on Food, May 23-26, 2012, Novi Sad, Serbia.

² E-mail: igor@niv.ns.ac.rs

BAKTERIJE U STOČNOJ HRANI I NJIHOVA OSETLJIVOST NA ANTIMIKROBNE LEKOVE

Igor Stojanov, Milica Živkov Baloš, Miloš Kapetanov,

Jasna Prodanov Radulović, Jelena Petrović

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

Kratak sadržaj

Kontrola mikrobiološke ispravnost stočne hrane je zakonom regulisana. Ova regulativa se oslanja na standarde u metodologiji ispitivanja stočne hane koji se permanentno menjaju u pravcu dograđivanja i poboljšanja ne samo metodologije već i indirektno same mikrobiološke bezbednosti namernica namenjenih životinja. Da li je samo prisustvo ili odsustvo pojedinih bakterijskih vrsta dovoljno za pravilnu procenu bezbednosti hrane? Odgovor na pitanje može da se potraži ispitivanjem ne samo kvantitativnog prisustva bakterija u stočnoj hrani, već i kvalitativnim analizama prisutnih mikroorganizama. Osetljivost bakterija izolovanih iz stočne hrane prema antimikrobnim lekovima predstavlja jednu od kvalitativnih osobina mikroorganizama koja može uticati na kvalitet namirinica bez obzira što prema dozvoljenim graničnim vrednostima hranivo zadovoljava standarde. Predmet rada našeg istraživanja vezan je za praćenje prisustva bakterija u stočnoj hrani sa ciljem da se utvrdi da li je kod izolovanih bakterija prisutna smanjena osetljivost na antibiotike. Za proveru osetljivosti bakterija na antibakterijske lekove koristili smo izolate dobijene iz redovne mikrobiološke kontrole stočne hrane. Stočna hrana je obrađena standarnim metodama za izolaciju i identifikaciju bakterija a utvrđivanje osetljivosti izolata urađeno je metodom disk difuzije prema NCLS. Izolovane su sledeće bakterije: *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp. Rezultati ispitivanja pokazuju prisustvo smanjene osetljivosti nekih izolata prema pojedinim antimikrobnim lekovima. Ovakav nalaz može dati odgovor na problem prisustva bakterija u stočnoj hrani, koji nije samo vezan za njihov broj, već i za njihove karakteristike koje mogu uticati na ekologiju mikroorganizama.

Ključne reči: stočna hrana, bakterije, antimikrobna osetljivost

INTRODUCTION

Different types of microorganisms can be found in feed. The microorganisms can be transmitted in different ways from the ground: by wind, rain and

insects or by mechanical treatment (K.G. Maciorowski et al., 2007). Since the feed is the first critical point in the food production chain, it is necessary permanently to control the feed in terms of its safety. A detailed microbiological control of feed is described in the current legislation ("Official Gazette" SFRJ 25/1980). This refers also to the methods of testing the total number of bacteria (TNB). In this way an entry of certain pathogens and zoonotic microorganisms in the feed is prevented. In indirect way, this ensures the microbiological safety of food of animal origin which can become a potential source of human infection. The standard methods for feed control and allowed limits in terms of number of saprophytic microorganisms are available.

The number of saprophytic microorganisms permitted by regulation is different depending on the type of feed and animal category for which the feed is intended. Legal acts determine only the quantity of saprophytic bacteria but the qualitative characteristics of saprophytes can be overlooked. On the other hand, saprophytes are living organisms that can possess some undesirable properties. They can also transfer some of their properties to microorganisms in the digestive tract of animals. A qualitative analysis of saprophytic bacteria can contribute in preventing the transfer of undesirable features. An example is the transfer of resistance genes to microbes that reside in animals. The increased selection of the resistant bacteria in animals and humans and the spread of genes that carry these characteristics may affect ecosystem (Leila Soufi et al., 2011). For these reasons, the subject of our research was related to monitoring the presence of bacteria in animal feed in order to determine whether the isolated bacteria possess the decreased sensitivity to antibiotics.

MATERIAL AND METHODS

Animal feed was analyzed for six months in the second half of 2011. The obtained samples originated from feed factories that regularly check their products. A total of 26 samples were examined for different animal categories. Total mix used in poultry fattening and grower of breeding hens (starter, grower, finisher), as well as the mix for calves and food supplements (vitamin and mineral, vitamin and protein) were examined. The samples were processed according to the methodology described in the Ordinance on the methods of performing microbiological analysis and super nutritional support life ("Official Gazette" SFRJ 25/1980). The samples were homogenized and weighed to 20 g in the Erlenmeyer flask bottle. A sterile physiological saline solution was added to the volume of 180 mL to obtain a basic dilution 10^{-1} . From this dilution 1 ml was taken and placed directly on blood agar (agar with 5% defibrinated sheep blood) and McConkey agar. Identification of bacterial isolates was done

after Gram stain and microscopic examination was performed by determining the physiological characteristics of bacteria through a series of biochemical tests (catalase test, Methyl red, indol producton, urease, citrate, mannitol fermentation) (Quinn et al., 2002). The sensitivity of isolated strains was done as recommended by CLSI (2006). We used antibiotic disks Tetracycline (30 µg), ampicilline (10 µg), streptomycin (10 µg), Ceftriaxone (30 µg), Trimethoprim + sulfamethoxazole (25 µg (trimetoprim 1,25 µg + sulamethox-azole 23.75 mg)), chloramphenicol (30 µg), lincomycin (2 µg), enrofloxacin (5µg), amoxicillin (30 µg (amoxicilin 20 µg + 10 µg clavulonic acid)) (produced by Bioanalyse) while Lincospectin (109 µg (lincomycin 9 µg + Spektinomicin 100 µg) discs were from the producer Bioanalyse, (Bioanalyse Ltd.).

RESULTS AND DISCUSSION

From a total of 26 processed materials 62 isolates were detected. Within the total number of isolated bacteria six different bacterial species were confirmed. Our study was limited to the obtained isolates and the sensitivity to antimicrobial drugs is given in Table 1.

Among *Enterobacteriaceae* *Escherichia coli* and *Enterobacter sp.* were most frequently found. These microorganisms were represented with 62.85% of total isolates. *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.* and *Micrococcus sp.* are microorganisms that are widespread in nature and are part of the saprophytic microbiota of humans, animals and the external environment. *Flavobacter sp.* belongs to a group of microorganisms that are found as commensals in the soil and their findings may indicate that the feed is contaminated and has been, directly or indirectly, in contact with bacteria of the soil.

The results showed that *E. coli* and *Enterobacter sp.* as the predominant microorganisms, contaminating feed, carry a high resistance to certain antimicrobial drugs. These two species showed complete resistance to lincomycin. This may be due to the long use of antimicrobial products as growth promoters or in prophylactic purposes (Frank M. Aarestrup, Henrik C. Wegener 1999; Torrence E. Mary, 2001). An extraordinary high resistance (75-100%) to lincomycin and the fact that 50% or more isolates were resistant to ampicillin, amoxicillin and lincospectin is surprising since it is obvious that the strains isolated from food animals were in contact with the antimicrobial drugs long enough to develop resistance. Equally important would be to determine the sources of microorganisms from animal feed because of their high resistance to certain antimicrobial drugs that can occur only in contact with these agents or through horizontal transfer of the genome responsible for resistance (K.G. Maciorowski et al., 2007, Velhner Maja et al., 2010). The data obtained are

similar to the study from Portugal (Paulo Martins da Costa et al., 2007) where the resistance in *E. coli* was relatively low (29.9% ampicillin, tetracycline 27.7%) or absent for amoxiclav. The study also shows that the resistance to three and more antibiotics was present in 18.1% of isolates.

Table 1. Sensitivity of isolated bacteria to antimicrobial therapy

	<i>E. coli</i>			<i>Enterobacter sp.</i>			<i>Bacillus sp.</i>		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
1. Tetracycline	33.3	27.7	38.8	27.5	29.2	43.3	75	8.33	16.67
2. Ampicillin	33.3	11.1	55.5	26.4	19.1	54.5	41.66	16.67	41.66
3. Streptomycin	50	38.8	11.1	48.2	41.4	10.4	66.66	8.33	25
4. Ceftriaxone	100	-	-	91.3	8.7	-	50	8.33	41.66
5. Trimetho.+sulf.	100	-	-	93.5	6.5	-	33.33	16.66	50
6. Chloramphenic.	94.4	-	5.55	89.1	4.2	6.7	58.33	16.6	25
7. Lyncomycin	-	-	100	-	-	100	25	-	75
8. Enrofloxascine	100	-	-	100	-	-	91.66	-	8.33
9. Amoxyclav.	38.88	5.55	55.55	36.15	6.05	57.8	66.66	-	33.33
10. Lyncospectino.	-	44.44	55.55	-	39.15	60.85	25	41.66	33.33

S – Sensitive, I – Intermediate, R - Resistant

Table 1. Sensitivity of isolated bacteria to antimicrobial therapy (continued)

	<i>Flavobacter sp.</i>			<i>Staphylococcus sp.</i>			<i>Micrococcus sp.</i>		
	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)	S (%)	I (%)	R (%)
1. Tetracycline	100	-	-	83.3	16.6	-	91.6	8.4	-
2. Ampicillin	80	-	20	83.3	16.6	-	92.7	7.3	-
3. Streptomycin	80	-	20	83.3	16.6	-	82.9	17.1	-
4. Ceftriaxone	80	-	20	66.6	16.6	16.6	89.3	10.7	-
5. Trimetho.+sulf.	80	20	-	83.6	-	16.6	82.5	8.5	9
6. Chloramphenic.	100	-	-	83.3	16.6	-	83.3	16.6	-
7. Lyncomycin	20	40	40	42.8	28.63	28.57	50	38.3	11.7
8. Enrofloxascine	80	10	-	85.7	14.3	-	87.1	12.9	-
9. Amoxyclav.	80	20	-	85.7	14.3	-	75.8	24.2	-
10. Lyncospectino.	20	60	20	71.42	-	28.5	68.2	15.4	16.4

S – Sensitive, I – Intermediate, R - Resistant

Microflora of the digestive tract contains hundreds of bacterial species (S. Steve Yan, Jeffrey M. Gilbert, 2004). The vertical transfer of resistance determinants can occur via plasmids, prophages, transposons and integrons (S. Steve Yan, Jeffrey M. Gilbert 2004, Velhner M. et al., 2010), especially among Gram

negative bacteria. Subsequently drug-resistant strains can be transmitted from animals to humans. The presence of bacteria from the family *Enterobacteriaceae*, such as *E. coli* and *Enterobacter sp.* in animal feed may contribute to the spread of resistance genes through horizontal or vertical transfer. This is why bacteria which is carrying resistance genes, become part of the microflora of the digestive tract (S. Steve Yan, Jeffrey M. Gilbert 2004). Also, resistance to some antimicrobial drugs can occur in herds that were not in contact with drugs during their lifetime. The presence of resistant strains of *Flavobacter sp.* in animal feeds confirms the possibility of transfer of soil bacteria to feed (K.G. Maciorowski et al., 2007). Also it has been observed that some resistance of Flavobacter to antimicrobial drugs may indicate that antibiotic substance came in soil where they have caused the appearance of resistance. On the other hand, it is possible that the emergence of resistance occurred as a result of the spread of bacteria among which the horizontal resistance gene transfer may happen.

CONCLUSION

Control of feed in respect to quantitative microbiological examination meets the standards that provide the limits of permissible and impermissible microorganisms. Our study has shown that the qualitative analysis of bacterial isolates contributed to a higher degree of food safety since it can provide information about the reduced sensitivity of bacteria to antimicrobial agents, a possible elimination from the food chain which leads to improvement of ecology.

REFERENCES

1. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Ninth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute document M2-A9 ŠISBN 1-56238-586-0. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA.
2. Aarestrup F.M., Wegener H. C.: The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*, *Microbes and Infection, Review*, 1, 639–644, 1999
3. Soufi L., Sáenz Y., Vinué L., Abbassi M. S., Ruiz E., Zarazaga M., Hassen A. B., Hammami S., Torres C.: *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons, *International Journal of Food Microbiology* 144 , 497–502, 2011
4. Maciorowski G.K., P. Herrera, F.T. Jones, S.D. Pillai, S.C Ricke: Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi, *Animal Feed Science and Technology* 133, 109–136, 2007
5. Costa P. M. da, Oliveira M., Bica A., Vaz-Pires P., Bernardo F.: Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from poultry feed and feed ingredients, *Veterinary Microbiology* 120, 122–131, 2007
6. Quinn J. P., Markey, B., Carter, E. M., Donnelly J.W., Leonard C.F.: Veterinary Microbiology and Microbial Diseases; London: Mosby, 2002
7. Steve Yan S., Gilbert J. M.: Antimicrobial drug delivery in food animals and microbial food safety concerns: an overview of in vitro and in vivo factors potentially affecting the animal gut microflora, *Advanced Drug Delivery Reviews* 56 , 1497– 1521, 2004
8. Torrence E. M.: Activities to address antimicrobial resistance in the United States, *Preventive Veterinary Medicine* 51, 37-49, 2001
9. Velhner M., Petrović J., Stojanov I., Ratajac R., Stojanović D.: Mechanizmi prenošenja rezistencije kod bakterija. *Arhiv veterinarske medicine*, 3, 1, 85-93, 2010

Primljeno: 10.08.2012.

Odobreno: 01.11.2012.

Pregledni rad

UDK 616-056:616.988:639.11

Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in wild animals^{1*}

Maja Velhner¹, Ljiljana Suvajdžić², Jelena Petrović¹, Marcela Šeperanda³

¹Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Serbia

²Faculty of Medicine, Department of Pharmacy, Novi Sad, Serbia

³University of Osijek, Faculty of Agriculture Osijek, Croatia

Abstract

The paper presents the recent finding of resistance phenotype and distribution of resistant genes in *Escherichia Coli* (*E. coli*) isolated from wild life. The resistance distribution was depended on animal species, their natural habitat, and some seasonal variations were also evident. Wild animals residing close to the farms were more often spreaders of resistant bacteria than those found in nature. It was shown that humans have an important role in appearance and dissemination of resistant *E. coli* in population of wild animals.

Key words: wild animals, *E. coli*, resistance, resistant genes, antibiotics

^{1*} This work is supported by a grant from the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia, Project number TR 31084.
E-mail: maja@niv.ns.ac.rs

ANTIMIKROBNA REZISTENCIJA *ESCHERICHIA COLI* KOD DIVLJIH ŽIVOTINJA

Maja Velhner¹, Ljiljana Suvajdžić², Jelena Petrović¹, Marcela Šeperanda³

¹Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, Srbija

²Medicinski fakultet, Departman za farmaciju, Novi Sad, Srbija

³Univerzitet u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek, Hrvatska

Kratak sadržaj

U radu su opisana najnovija saznanja o distribuciji rezistentnih sojeva *E. coli* i gena koji kodiraju rezistenciju za *E. coli* izolovanih kod divljih životinja. Distribucija rezistencije zavisi od vrste životinja, prirode njihovih staništa, a kod nastanka rezistencije, uočavaju se i sezonske varijacije. Rezistentni sojevi *E. coli* češće su ustanovljeni kod divljih životinja nastanjenih u blizini farmi, u odnosu na vrste slobodne u priodi. Dokazana je uloga čoveka u pojavi i širenju rezistencije *E. coli* u populaciji divljih životinja.

Ključne reči: divlje životinje, *E. coli*, rezistencija, rezistantni geni, antibiotici

Introduction

Mutations on genes conferring antimicrobial resistance (AMR) in *E. coli*, from wild animals are rare, since treatment with antimicrobials during their life time is not possible. However, if contact with the resistant bacteria happens in nature, the dissemination of resistant genes in wild life becomes evident. Wild animals that live close to the livestock may harbor resistant bacteria and contaminate the surroundings. Migrating birds can transmit resistant genes from a long distance contaminating the environment as well (Allen et al., 2011). Water flows near the farms can be polluted, providing opportunity for different pathogens to come in contact with the wild animals. Sometimes environmental contamination happens even if farms are situated far from the woods and meadows implicating the role of agricultural business in dissemination of resistant genes. Since there are various means by which resistant genes become reservoirs in nature, it is important to monitor its presence applying seasonal monitoring or surveys. The sampling strategy thus becomes crucial and needs to be done with care considering the nature of the habitat. The most frequent sample is feces that need to be collected by swabbing. From wild birds the feces can be collected as a cloacal swab or from feces found in places where the wild birds reside. The samples need to be collected in sterile tubes and then sent to

laboratory as soon as possible. For the isolation and identification of *E. coli*, a highly selective media is used and characteristic colonies are further identified, applying biochemical parameters (Suvajdžić et al., 2012). The AMR phenotype is determined according to the recommendation of the CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute). It is often difficult to find a connection between the type of AMR and its source and this is why much effort is needed toward the research of the true nature of resistances in wild life. However, anthropogenic and natural AMR of bacteria in wild animals is suggestive and can be more frequent than previously thought. The goal of this paper is to present recent findings in terms of resistance of *E. coli* isolated from wild animal species and to outline resistance genes found in animals from various habitats.

Wild bird species could spread resistant bacteria

The first report of extended-spectrum β-lactamase, (ESBL) producing *E. coli* from wild animals came from Portugal. The ESBL phenotype in *E. coli* was discovered during an AMR survey in wild animals residing in natural parks in the north and central areas of the country. An extended-spectrum β-lactamase producing *E. coli* was found in fecal samples in one owl, otherwise susceptible to non-β-lactam antibiotics. The *E. coli* was carrying *bla*_{TEM-52} genes. The *E. coli* isolated from one bird of prey were *bla*_{CTX-M-14} and *bla*_{TEM-52} positive and this isolates were also resistant to nalidixic acid (NAL) and tetracycline (TET). In two other birds of prey the *bla*_{CTX-M-14} and *bla*_{TEM-1} gene was found in otherwise multiple resistant *E. coli* while in another bird of prey (the fourth isolate) *E. coli* was carrying different *bla*_{TEM} genes. The *E. coli* which had the *bla*_{SHV-12} gene was also found in one bird of prey (Costa et al., 2006). Further investigation on the AMR to the wide spectrum of antibiotics in *E. coli* from 24 different wild animals residing in Natural Parks in Portugal reveals different resistance patterns. In the two birds of prey, the *E. coli* was resistant to ampicillin and cefotaxime. The *bla*_{TEM-52} gene was found in one isolate, while the second isolate possessed the *bla*_{TEM-1} gene. Both of these two isolates also posses the *bla*_{CTX-M-14} type gene. In the five isolates resistant to gentamicin, the genes encoding aminoglycoside acetyltransferase the *aac*(3)-II or *aac*(3)-IV were found. Gene's *aadA1* or *aadA2* encoding aminoglycoside adenyltransferase modifying streptomycin was present in 22/25 streptomycin resistant isolates. Efflux mediated tetracycline resistant genes *tetA* and/or *tetB* was detected in 39 isolates from this collection. It was postulated that the reservoir of resistant genes transferable to animals and humans is attributed to some comensal bacteria that are present in the intestine of wild animals (Costa et al., 2008). Wild geese residing in agricultural areas were showing resistance phenotype

much more frequently than birds from the wildness. In the research of Cole et al. (2005), a higher incidence of antimicrobial resistance was connected to the interaction of birds with the waste lagoons in Craven County. In fact, the resistance to antimicrobials was as common as in pigs raised in relatively close proximity. Wild geese residing in Georgia with no contact to swine farms or waste waters displayed only resistance to cefoxitin-amoxicillin/clavulanic acid-cephalotin in 19% isolates. Another research showed that 2 out of 396 *E. coli* from wild geese residing in wildlife in Belgium were resistant to ceftiofur and yet they carried extended-spectrum β -lactamase genes. The screening was directed to genes encoding: TEM, SHV, CTX-M- and CMY enzymes. One isolate has a gene *bla*_{SHV-12} while the other isolate has a gene *bla*_{TEM-52} encoding ESBL TEM-52. The presence of the genes encoding ESBL in wild geese in Belgium suggests its possible dissemination in nature and also the possibility of its transfer to humans (Garmyn et al., 2011). During the fall, winter and spring in Oxford peninsula, Maryland-USA, fresh feces was collected from migratory Canada geese (*Branta Canadensis*). *E. coli* was most frequently resistant to the following antimicrobials: chlortetracycline, penicillin, ampicillin (AMP), cephalothin and sulfathiazole. There were some seasonal variations in AMR patterns over time in *E. coli* isolates. It was postulated that if migratory birds are exposed to *E. coli* from the water, then in winter months this exposition level is lower and subsequently the success of the isolation rate decreases comparing to other parts of the year. The multiple resistance phenotypes was, however, higher during the fall and winter, comparing to spring, possibly due to the lower numbers of samples taken in March (Middleton and Ambrose, 2005). The European wild bird species were tested for shedding of *E. coli* resistant to the following antimicrobial agents: ampicillin, streptomycin, spectinomycin, chloramphenicol, gentamicin and tetracycline by microdilution method. A total of 226 birds were screened and isolates were further tested for carrying genes that encode the resistance to tetracycline (*tetA*, *tetB*, *tetC*), sulfonamides (*sul1*, *sul2* and *sul3*), streptomycin-spectinomycin (*aadA*, *strA*, *strB*) and apramycin-gentamicin (*aac(3)-IV*) by PCR. The resistance to ampicillin, tetracycline, sulfametoazole and streptomycin was most frequently found. Among 9 multiple resistant isolates, the *tetA*, *tetB*, *strA*, *sul2* genes were distributed while the *aadA2* was found in only two of the *E. coli* strains. Similar to other reports it was found that wild birds in rural region carry resistant genes almost at the same frequency as birds from the urban area (pigeons raised by man). In birds of prey the resistance was most frequent, therefore the authors postulated that close proximity to farms and the scavenging behavior of these birds contributed to the dissemination of the resistance genes in those birds. Also the contact with the water may be important as a source of resistant microorganisms. This research suggested that most frequently the po-

ssible resistance transmitters were birds of prey, the waterfowl and passerines (Guenther et al., 2010a). An extended-spectrum of the β -lactamase producing *E. coli* was reported from Simões et al. (2010) during the survey that encompassed wild seagulls residing in beaches of Porto in Portugal. The ESBL phenotype was displayed in 32% of the samples. All 45 ESBL carriers had the genes encoding ESBL of *bla*_{CTX-M} type, and one isolate possessed the *bla*_{TEM-52} gene. Sequencing reveals that among CTX-M determinants, 18% were CTX-M-1 type, 9% were CTX-M-9 type, 39% was CTX-M-15 type and 34% was CTX-M-32 type. Seagulls appeared to be a possible reservoir, carriers and spreaders of the ESBL producing *E. coli* in the swimming area of Porto. In the Czech Republic a survey was conducted to estimate the presence of the ESBL producing *E. coli* in cormorants that were shot during the winters 2007-2008. The feces which were collected at the roosting place and the cloacal swabs from the mallards shot during the autumn in 2008 were also included in the research. The ESBL phenotype was detected in 1.6% of cormorants. The respective genes found were either *bla*_{CTX-M-27} or *bla*_{CTX-M-15}. The isolates that produce the CTX-M-15 also carry the plasmid mediated gene *aac(6')-Ib-cr* and class 1 integron with the gene cassettes *dfrA17-aadA5*. The selection with ciprofloxacin also reveals the PMQR (plasmid mediated quinolone resistance) attributed to the *qnrS* gene and the *aac(6')-Ib-cr* in cormorants. The *E. coli* with *aac(6')-Ib-cr* gene was also *bla*_{CTX-M-15} and *bla*_{OXA-1} positive. In the mallards, the ESBL was not found but the *qnrS1* gene was detected in 17 birds from the transferable plasmid (Tausova et al., 2012). The research on *E. coli* that produced the CTX-M type ESBL in Germany reveals that from the 172 samples of cloacal swabs or organs, 4 strains of *E. coli* producing ESBLs were found. The genes *bla*_{TEM} and *bla*_{CTX-M} were present in the following birds: Eurasian Blackbird, Rock Pigeon, Greater White fronted Goose. Also the *tetA*, *tetB*, *strA* and *strB* genes were displayed, as well as the *aadA5* genes and *dfrA17* inducing AMR to tetracycline, aminoglycosid antibiotics and to trimethoprim. According to the PFGE data, these strains differ from the isolate of the *E. coli* found in the urinary tract of a patient in Germany. Besides the fact that *E. coli* that produces the CTX-M ESBL was present in different birds with different feeding habits, it is possible that the emerging clone of the ESBL producing *E. coli* exists in Germany (Guenther et al., 2010b).



Bird of prey (Bald Eagle, *Haliaeetus leucocephalus*)

Resistance of *E. coli* in small mammals from wild life

In southeastern Senegal black rats (*Rattus rattus*) and chiropterans (*Micropteropus pusillus*) were trapped and rectal swabs were cultivated to isolate *E. coli* with the aim of resistance monitoring. In Dar Salam 2, the strains of *E. coli* from black rats' posses the AMR phenotype. One isolate was resistant to tetracycline (carrying *tetA* gene) while the other isolate displayed resistance to teteracycline, sulphonamides and to sulphametoazole-trimethoprim and thus carry *tetA* and *sul2* genes. One isolate from the chiropterans was resistant to the TET and carried the *tetA* gene. From Tambacounda 2, isolates of the *E. coli* from the black rats were resistant to NAL but sensitive to CIP. One *E. coli* isolate was also found to be resistant to ampicillin, streptomycin, sulphonamides, sulphametoazole-trimethoprim and tetracycline carrying *bla_{CTX-M-15}*, *strA*, *sul2* and *tetA* genes. The occurrence of the ESBL phenotype in *E. coli* from rodents is important because of the possibility of its dissemination from small mammals to humans in the area (Literak et al., 2009). The research on the AMR of the *E. coli* isolated in small wild mammals residing in proximity to swine farms and the resistances of isolates found in nature was conducted in Ontario Canada. The AMR patterns were more frequent in animals found in the farm environment comparing to natural areas. Isolates from the natural area were resistant to TET and AMP while in wild animals trapped on farm the multiple resistances was found to be attributed to streptomycin, sulfisoxazole and TET (2 isolates from one animal), streptomycin, sulfisoxazole, trimethoprim-sulfametoazole, TET and chloramphenicol (one isolate from the animal trapped on a farm) and in another animals trapped on a farm, the resistance was directed to cefoxitin, TET and chloramphenicol. In wild animals from a natural environment, two isolates (from the same animal) were

found to carry genes *tetA* and *bla_{TEM}*. The resistance to TET, sulfonamides and streptomycin in wild animals from the vicinity of the farm is related to the use of antibiotics, although the last two antimicrobials are not so frequently applied. Chloramphenicol resistance was also found in wild mammals from the vicinity of the farm in spite of the fact that this antibiotic had been withdrawn over 20 years ago. However, the genes conferring the resistant phenotype did manage to be preserved in the environment, as postulated in their study. The integron associated genes *aadA* and *sul1* were not present in wild animals from the nature, but were common finding in animals trapped around the farm. The *tetB* gene was most frequent in wild animals from the vicinity of a farm and yet was absent in wild animals from the nature (Kozak et al., 2009). The resistance of the *E. coli* isolated in small mammals that were trapped around swine farms, natural habitats, in vicinity of landfills and residential areas in Ontario, Canada was also investigated (Allen et al., 2011). Animals that were trapped included: *Peromyscus* sp (deer mouse), *M. musculus* (house mouse), *B. brevicauda* (Northern short tailed Shrew), *M. pennsylvanicus* (Meadow vole/mouse), *T. striatus* (Eastern chipmunk) and *Rattus norvegicus* (Berkenhout). In animals from swine farms, the most common resistance was to tetracycline. In residential areas resistance to ampicillin was prevalent while in the vicinity of landfills, the resistance in *E. coli* was attributed to ampicillin, kanamycin and chloramphenicol. Interestingly, the resistance of *E. coli* from animals trapped in natural environment was attributed exclusively to chloramphenicol (one isolate). The finding of the resistance to ampicillin, streptomycin, sulfazaxole and tetracycline was much higher in the vicinity of swine farms comparing to the finding in residential area. The risk of multiple resistance of *E. coli* from animals trapped close to landfills and in residential areas was not significant thus implicating that contamination is not present in the area. Most of the AMR genes were distributed in wild animals residing close to the swine farms and they included: *bla_{TEM}*, *bla_{CMP}*, *strA-strB*, *aadA*, *aphA1*, *sul1*, *sul2*, *sul3*, *tetA*, *tetB*, *tetC* and *cmlA*. During the hunting season wild rabbits in North Portugal were tested for resistance patterns of *E. coli* and *Enterococcus* sp. Resistance to 3 or more antimicrobials were detected in 4 fecal samples. Overall the AMR rate was low since 6 feces from the 44 samples showed a reduced susceptibility to antimicrobials. This was partially explained by the fact that rabbits do not come in close contact to animal waste, since they are herbivores. In very few samples genes corresponding to certain resistance mechanisms were detected. In ampicillin resistant *E. coli* the *bla_{TEM}* gene was found, gentamicin resistant isolates carry *aac(3')-II* gene, streptomycin resistance was *aadA* positive, sulfamethoxazole and trimethoprim was related to *sul1* and *sul2* genes and *sul3* gene while teteracycline resistance was marked by the presence of *tetA* and

tetB genes indicating active efflux. Cholramphenicol resistance was directed over *cmlA* gene (Silva et al., 2010). In the Shimokita Peninsula in Japan there is a high density of Japanese macaques (the Snow monkey) that sometimes damages the crops and often invades homes of the citizens. The fecal samples were subsequently collected in order to do research on AMR of the *E. coli* and consider possibility of resistance transfer to humans. The *E. coli* was isolated from 159 out of 265 samples of wild macaques and from 17 out of 20 captured macaques during December 2005 and from October to December 2006. Fifty-eight isolates were resistant to the following antimicrobials: 17 to cephalothin, 13 to ampicillin, 27 to cephalothin and ampicillin and one isolate was resistant to streptomycin. Pathogenic *E. coli* was not found applying agglutination test. It was suggested that contact with humans did not influence the resistance phenotype in the Peninsula (Ogawa et al., 2011).



Snow Monkey (Japanese macaque)

CONCLUSION

In conclusion the most probable reservoirs of resistant bacteria in wildlife are water birds and birds of prey. This coincides with the fact that those birds happen to come close to the human sewage and waste waters and may become infected with the resistant bacteria. Reports on antimicrobial resistance in wildlife are higher in the parts of Europe where human density is significant, but this is not a rule. Sometimes the resistance levels in *E. coli* are more attributed to the type of wild animal species than to their habitat. Namely, wild birds tend to come in contact with waste more often than other wild animals. They also often live in urban area and more frequently carry *E. coli* (Guenther et al., 2011). Since animals from wildlife are found to be carriers of *E. coli* harboring different AMR patterns the environment must be protected from the pollution, thus preserving the wild life on our planet.

REFERENCES

1. Allen S.E., Boerlin P., Janecko N., Lamsden J.S., Barker I.K., Pearl D.L., Reid-Smith R.J., Jardine C.: Antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* isolates from wild small mammals living in swine farm, residential, landfill and natural environments in Southern Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 882-888, 2011.
2. Cole D., Drum D.J.V., Stallknecht D.E., White D.G., Lee M.D., Ayers S., Sobsey M., Maurer J.J.: Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. *Emerging Infectious Diseases* 11, 935-938, 2005.
3. Costa D., Poeta P., Sáenz Y., Vinué L., Rojo-Bezares B., Jouini A., Zarazaga M., Rodrigues J., Torres C.: Detection of *Escherichia coli* harboring extended-spectrum β-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, 1311-1312, 2006.
4. Costa D., Poeta P., Sáenz Y., Vinué L., Coelho A.C., Matos M., Rojo-Bezares B., Rodrigues J., Torres C.: Mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from wild animals. *Microbial Drug Resistance*, 14, 71-77, 2008.
5. Garmyn A., Haesebrouck F., Hellebuyck T., Smet A., Pasamans F., Butaye P., Martel A.: Presence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* in wild geese. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 1643-1644, 2011.
6. Guenther S., Grobbel M., Lübke-Becker A., Goedecke A., Friedrich ND., Wieler L.H., Ewers C.: Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* from common European wild bird species. *Veterinary Microbiology*, 144, 219-225, 2010a.
7. Guenther S., Grobbel M., Beutlich J., Bethe A., Friedrich N.D., Goedecke A., Lübke-Becker A., Guerra B., Wieler L.H., Ewers C.: CTX-M-15-type extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* from wild birds in Germany. *Environmental Microbiology Reports*, 2, 641-645, 2010b.
8. Guenther S., Ewers C., Wieler L.H.: Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of the environmental pollution? *Frontiers in Microbiology*, 2, 246, 1-13, 2011.
9. Kozak G.K., Boerlin P., Janecko N., Reid-Smith R.J., Jardine C.: Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 559-566, 2009.
10. Literak I., Dolejska M., Cizek A., Djigo C.A.T., Konecny A., Koubek P.: Reservoirs of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae among animals

- sympatric to humans in Senegal: extended-spectrum beta-lactamases in bacteria in black rat (*Rattus rattus*). *African Journal of Microbiology Research*, 3, 751-754, 2009.
11. Middleton J.H., Ambrose A.: Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada geese (Branta Canadensis). *Journal of Wildlife Diseases*, 41, 334-341, 2005.
12. Ogawa K., Yamaguchi K., Suzuki M., Tsubota T., Ohya K., Fukushi H.: Genetic characteristics and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from Japanese Macaques (*Macaca Fuscata*) in rural Japan. *Journal of wildlife diseases* 47, 261-270, 2011.
13. Silva N., Igredas G., Figueiredo N., Goncalves A., Radhouani H., Rodrigues J., Poeta P.: Molecular characterization of antimicrobial resistance in enterococci and *Escherichia coli* isolates from European wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Science of the Total Environment*, 408, 4871-4876, 2010.
14. Simões R.R., Poirel L., Da Costa P.M., Nordmann P.: Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases*, 16, 110-112, 2010.
15. Suvajdžić Lj., Lević J., Velhner M., Pavkov S., Potkonjak A., Milanov D., Čabarkapa I.: Common food borne bacterial diseases of poultry. In: Proceedings of the XV International Feed Technology Symposium, 03-05 Oktobar, Novi Sad, Editor Jovanka Lević, 2012, p. 154-165.
16. Tausova D., Dolejska M., Cizek A., Hanusova L., Hrusakova J., Svoboda O., Camlik G., Literak I.: *Escherichia coli* with extended-spectrum β-lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in great cormorants and mallards in Central Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67, 1103-1107, 2012.

Primljeno: 15.10.2012.
Odobreno: 01.11.2012.

Stručni rad

UDK 591.469:546.47:611.018.5

**ODNOS DEBLJINE KERATINSKOG SLOJA SISNOG
KANALA VIMENA KRAVA I KONCENTRACIJE
CINKA U KRVNOM SERUMU^{1*}**

**Ivana Davidov², Miodrag Radinović¹, Mihajlo Erdeljan¹,
Zorana Kovačević¹, Dragica Stojanović²**

¹Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

²Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad

Kratak sadržaj

Sa mini farme krava holštajn-frizijske rase kapaciteta 30 grla, starosti između 3 i 5 godina, izabrano je 15 krava, kojima je merena vrednost cinka u krvnom serumu. Analizom uzoraka krvnih seruma uočena su variranja koncentracija cinka krvnog seruma. Od 15 ispitivanih krava kod 11 (73,33%) su ustanovljene vrednosti cinka krvnog seruma ispod fizioloških za visoko-mlečne krave. Kod ogledne grupe krava ustanovljene su različite vrednosti debljine keratinskog sloja sisnog kanala. Na osnovu statističke analize, primenom testa korelacije, utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava što ukazuje da vrednosti cinka ispod fizioloških granica uslovjavaju tanji keratinski sloj sisnog kanala.

Ključne reči: keratinski sloj, sisani kanal, cink, krvni serum, krava

^{1*} Rad je rezultat istraživanja na projektu Ministarstva prosvete i nauke RS, TR 31071

² E-mail: ivanadav@polj.uns.ac.rs

RELATIONSHIP BETWEEN KERATIN LAYER OF DUCTUS PAPILLARIS AND ZINC BLOOD SERUM CONCENTRATION IN DAIRY COWS

Ivana Davidov^{1*}, Miodrag Radinović¹, Mihajlo Erdeljan¹, Zorana Kovačević¹, Dragica Stojanović²

¹Departman of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Novi Sad

²Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“, Novi Sad

Abstract

The experiment was carried out on a mini farm of Holstein-Friesian cows with 30 animals, aged between 3 and 5 years and the zinc level in serum was measured. The analyses of the blood samples indicated a variation in the concentration of zinc in serum. In 11 out of 15 tested cows (73.33%) the zinc values in serum were below the physiological values for high-milking cows. In the experimental group different thickness of the keratin layer was detected in the teat canal. The statistical analysis showed a positive correlation between the concentration of zinc in cow serum and the thickness of teat canal keratin layer. This indicates that the cows with low values of zinc have thin keratin layer of the teat canal.

Key words: keratin layer, teat canal, zinc, blood serum, cow

UVOD

Visoko mlečne krave gube znatne količine minerala u vreme laktacionog perioda, tako da im se mora obezbediti dovoljna količina mineralnih materija u obroku. Mineralne materije su potrebne životinjama za jačanje skeleta i za sve vitalne funkcije organizma. Makroelementi su potrebni u većim količinama, i među njih spadaju Ca, P, Mg, K, Na, Cl i S, dok su mikroelementi potrebni u manjim količinama tj. u tragovima i u njih spadaju Fe, Cu, Co, J, Mn, Zn, Se, Mo i F. Mikroelementi su neophodni za očuvanje homeostaze, ali prevelike doze nekih mikroelemenata, kao što su Cu, Mo i Se, mogu imati toksičan efekat.

Cink je esencijalni element za biljke, životinje i čoveka. Ulazi u sastav enzima koji sprečavaju aktivnost slobodnih radikala (Vallee and Falchuk, 1993; Prasad et al., 2004; Gressley, 2009), ima značajnu ulogu u imunološkom odgovoru organizma (Weiss and Spears, 2006), kao i u očuvanju intergiteta kože (Sordillo et al., 1997; Tomlison et al., 2004; 2008). Takođe ima uticaja na smanjenje broja somatskih ćelija u mleku krava (Kellogg et al., 2004). Mlečnoj

žlezdi kao organu koji predstavlja derivat kože, za razvoj je neophodan cink (Tomlison et al., 2004; 2008), zbog formiranja keratinskog sloja u sisnom kanalu (*ductus papillaris*).

Količina cinka u hrani varira i zavisi od količine cinka u zemljištu, od vrste biljaka i od dela biljke. Smatra se da količina cinka u biljkama sa zemljišta teritorije Srbije iznosi između 25 i 50 mg/kg suve materije (Obračević, 1990). Trave obično sadrže od 30 do 50 mg Zn/kg suve materije, dok leguminoze sadrže veće količine (Kolarski, 1995).

Vrlo je malo literaturnih podataka o uticaju cinka iz hrane na zdravlje mlečne žlezde. Ipak je nekoliko studija objavljeno o uticaju dodataka cinka u hrani na broj somatskih ćelija. U istraživanjima Kellogg (1990), Tomlinson et al. (2002), Whitaker i sar., (1997) i Van Saun (2009) uočeno je da svakodnevno dodavanje cinka u hranu za krave, dovodi do pada broja somatskih ćelija u mleku.

Adekvatna koncentracija cinka u hrani, a posledično i u krvi, pozitivno utiče na pravilan imunski odgovor, dok deficit cinka dovodi do nepravilnog funkcionisanja imunskog sistema i nepravilne keratinizacije (Hutcheson, 1989; Reddy i Frey, 1990). Prvu liniju odbrane vimenima krava predstavlja sisni kanal (Giesecke i sar., 1972; Miller i sar., 1992; Paulrud, 2005), koji je sa unutrašnje strane obložen keratinskim slojem (Seykora i Mc Daniel, 1985; Sordillo i Nickerson, 1988; Uppal i sar., 1994). Davidov i sar. (2010, 2011) su utvrdili da debljina keratinskog sloja varira i da ta variranja u debljinama imaju uticaja na očuvanost morfološke i funkcione parenhime vimenima krava.

Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja koncentracije cinka krvnog seruma na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala vimenima krava.

MATERIJAL I METODE

Sa jedne mini farme Južno-bačkog okruga kapaciteta 30 krava holštajn-frijske rase 15 krava je bilo uključeno u istraživanje. Ogledna grupa je obuhvatila 15 krava, starosti od 3 do 5 godina, za koje su postojali podaci o povećanju broja somatskih ćelija u mleku i pojavi kliničkih mastitisa. Krave su držane u štalskom sistemu sa pristupom pijačoj vodi 24 sata.

Uzorci krvi su uzimani dva puta iz repne vene (*vena coccigea*), koja daje najbolji uvid u stanje mlečne žlezde. Pre uzimanja uzoraka krvi urađena je dezinfekcija mesta uboda, tako što je koža repa oprana tekućom vodom, obrisana suvom čistom krpom i na kraju očišćena alkoholom, po principu asepsije i antisepse.

Uzorci krvi su sakupljani u desetomilitarskim vakutajner epruvetama (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions UK) sa antikoagulansom

K3E u količini od 0,072 ml. Izvađenja krv u vakutajner epruveti je nežno mučkana 8 puta zbog mešanja antikoagulansa vakutajner epruvete sa uzetom krvlju. Svaka vakutajner epruveta je obeležena i transportovana u Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“ u Novom Sadu. Priprema uzorka je izvršena metodom vlažne digestije u sistemu Ethos, Microwave Labstation, Milestone. Koncentracije cinka su određene tehnikom spregnute plazme na instrumentu Agilent ICP-MS 7700 preko izotopa ^{66}Zn uz upotrebu inertnog gasa helijuma. Korišćeni su standardi za cink-AccuTrace Reference Standard, AA70N-1, Lot B9025027. Integraciono vreme za cink je iznosilo 0.1 s po tački.

Od 15 krava uključenih u ogled, 3 krave su poslate na ekonomsko iskorišćavanje i od njih su uzeta vimena za dalja histološka ispitivanja. Svaka papila vimena krava je otvorena uzdužnim rezom, zbog uvida u sisni kanal, koji je meren klasičnim metrom, radi utvrđivanja njihove dužine u mm. Debljina keratinskog sloja sisnog kanala je takođe merena tokom histološke analize, a njena debljina je izražena u μm . Analiza histoloških preparata je rađena na Leica mikroskopu.

Sve analize korelacije su rađene u Microsoft Excel programu kao i svi grafikoni.

REZULTATI I DISKUSIJA

Obzirom da adekvatna koncentracija cinka u hrani, a samim tim i u krvi, pozitivno utiče na pravilan imunski odgovor, deficit cinka dovodi do nepravilnog funkcionisanja imunskog sistema i nepravilne keratinizacije.

Na početku istraživanja, uzimani su uzorci krvi oglednoj grupi krava, za merenje koncentracija cinka krvnog seruma. Uzorke je bilo neophodno uzeti radi dobijanja početnog stanja koncentracija cinka kod ogledne grupe krava.

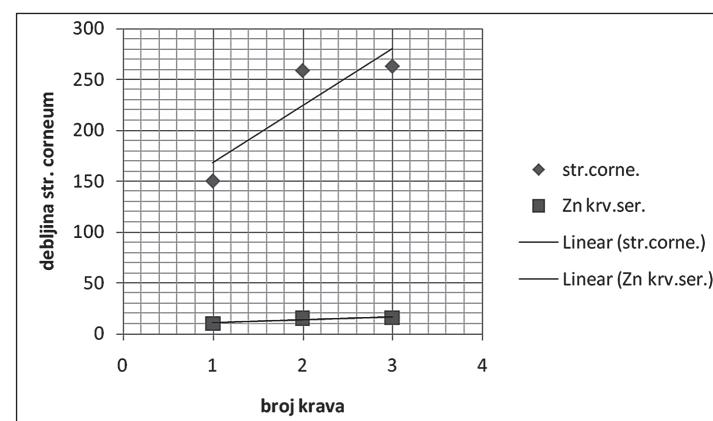
Na početku ispitivanja, kod oglednih krava vrednosti cinka krvnog seruma bile su u intervalu od 4,95 do 16,75 $\mu\text{mol/l}$ (Tabela 1). Kod 11 krava (73,33%) izmerene su vrednosti koje su ispod donje fiziološke granice za koncentraciju cinka kod visoko mlečnih krava (fiziološke vrednosti cinka od 7 do 13 $\mu\text{mol/l}$).

Tabela 1. Koncentracija cinka u krvnom serumu krava na početku istraživanja

red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	red.br. krava	Zn $\mu\text{mol/l}$
1.	10,33	6.	5,8	11.	6,64
2.	14,91	7.	9,98	12.	14,22
3.	15,12	8.	11,66	13.	7,13
4.	12,5	9.	7,46	14.	12,71
5.	16,75	10.	4,95	15.	9,98

Sisni kanal sa svojim keratinskim slojem predstavlja vezu između spoljašnje sredine i unutrašnjosti mlečne žlezde. Debljine keratinskog sloja sisnih kanala vimena krava ispitivane grupe su neujednačene, što odgovara nalazima drugih autora (Miller i sar., 1992; Paulrud, 2005; Davidov i sar., 2010, 2011).

Uporedivanjem koncentracije cinka u krvnom serumu krava koje su poslatе na ekonomsko iskorišćavanje i debljine njihovih keratinskog slojeva sisnog kanala vimena, uočeno je da krave sa višom koncentracijom cinka u krvnom serumu imaju debliju keratinski sloj sisnog kanala (Grafikon 1).



Grafikon 1. Odnos koncentracije cinka krvnog seruma i debljine keratinskog sloja sisnog kanala krava

Statističkom analizom utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava (Tabela 2), što ukazuje da porast koncentracije cinka krvnog seruma ne utiče na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala.

Tabela 2. Test korelacijske koncentracije cinka krvnog seruma i debljine keratinskog sloja sisnog kanala krava

Broj krava	Zn $\mu\text{mol/l}$	Keratinski sloj μm
1.	10,36	150,5
2.	15,58	258,75
3.	15,96	263
KORELACIJA		0,999624

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može se zaključiti postojanje različitih debljina keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava, kao i različite vrednosti koncentracije cinka u krvnom serumu krava. Pozitivna korelacija između koncentracije cinka krvnog seruma krava i debljine keratinskog sloja sisnog kanala vimena krava ukazuje da cink nije imao uticaj na debljinu keratinskog sloja sisnog kanala.

LITERATURA

1. Davidov, I., Radinović, M., Boboš, S., Mašić, Z., Lalošević, D.: Odnos različitih debljina keratinskog sloja ductus papillaris-a i infiltrata leukocita u parenhimu vimena krava. *Veterinarski glasnik*, 65, 5-6, 293-460, 2010.
2. Davidov I., Radinovic M., Stojanović, D.: Uticaj stratum corneum-a ductus papillaris-a na očuvanost parenhima vimena krava. *Arhiv veterinarske medicine*, 4, 1, 3-10, 2011.
3. Giesecke W.H., Gerneke W.H., van Rensburg I.B.J.: The morphology of bovine teat canal- A preliminary report, *J. S. Afr. Vet. Ass.* 43, 351-354, 1972.
4. Gressley T.F.: Zinc, copper, manganese and selenium in dairy cattle rations. *Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference*, pp. 65-71, 2009.
5. Hutcheson D.P.: Nutritional factors affect immune response in cattle. *Feedstuffs*. 61, 16-24, 1989.
6. Kellogg D.W.: Zinc methionine affects performance of lactating cows. *Feedstuffs* Aug. 20, 15-20, 1990.
7. Kellogg D.W., Tomlinson D.J., Socha M.T. and Johnson A.B.: Effects of zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of dairy cows: twelve- trial summary. *prof. Anim. Sci.* 20, 295-301, 2004.
8. Kolarski D.: Osnovi ishrane domaćih životinja. Beograd: Naučna knjiga, 1995.
9. Miller, R. H., Bitman J., Bright, S. A., Wood D. L. and Capucco, A. V.: Effect of clinical and subclinical mastitis on lipid composition of teat canal keratin. *J. Dairy Sci.* 75, 1436-1442, 1992.
10. Obračević Č.: Osnovi ishrane domaćih životinja. Beograd: Naučna knjiga, 1990.
11. Paulrud, C.O.: Basic Concept of the Teat Canal. *Veterinary Research Communication*, 29, 215-245, 2005.
12. Prasad A.S., Bao B., Beck Jr. F.W., Kucuk O. and Sarkar F.H.: Antioxidant effects of zinc in humans. *Free Radic. Biolo. and Med.* 37, 1182-1190, 2004.
13. Reddy P.G. and Frey R.A.: Nutritional modulation of immunity in domestic food animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 35, 255-281, 1990.
14. Seykora A.J. and McDaniel B. T.: Udder and teat morphology related to mastitis resistance. *J. Dairy Sci.* 68, 2087-2093, 1985.
15. Sordillo, L. M. and Nickerson, S. C.: Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *Amer. J. Vet. Res.* 19, 49, 1112-1118, 1988.
16. Sordillo L.M., Shafer-Weaver K. and DeRosa D.: Immunobiology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 80, 1851-1865, 1997.
17. Tomlinson D.J., Socha M.T., Rapp C.J. and Johnson A.B.: Summary of twelve trials evaluating the effect of feeding complexed zinc methionine on lactation performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 106-111, 2002.
18. Tomlinson D.J., Mulling C.H. and Fakler T.M.: Invited review: formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals and vitamins in functional claw integrity. *J. Dairy Sci.* 87, 797-809, 2004.
19. Tomlinson D.J., Socha M.T. and DeFrain J.M.: Role of trace minerals in the immune system. *Proc. Penn. State. Dairy Cattle Nutrition Workshop*, pp. 39-52, 2008.
20. Uppal, S.K., Singh, K.B., Nauryal, D.C. and Bansal, B.K.: Natural defense mechanisms against mastitis: a comparative histomorphology of buffalo and cow teat canal. *Buffalo Journal* 2, 125-131, 1994.
21. Vallee B.L. and Falchuk K.H.: The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.* 73, 79-118, 1993.
22. Van Saun R.J.: Ration approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs* 15, 15-21, 1990.
23. Weiss W.P. and Spears J.W.: Vitamin and trace mineral effect on immune function of ruminants. In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. (Eds.), *Ruminant Physiology*. Wageningen Academic Publishers, Utrecht, The Netherlands, pp. 473-496, 2006.
24. Whitaker D.A., Eayres H.F., Aitchison K. and Kelly J.M.: No effect of a dietary zinc proteinate on clinical mastitis, infection rate and somatic cell count in dairy cows. *Vet. J.* 153, 197-204, 1997.

Primljeno: 15.09.2012.
Odobreno: 01.11.2012.

PARAZITSKE BOLESTI MAČAKA NA BEOGRADSKOM PODRUČJU SA POSEBNIM OSVRTOM NA ZOONOZE

Vladimir Lažetić¹, Tamara Ilić², Vojislav Ilić³, Sanda Dimitrijević²

¹ Univerzitet u Vajomingu, program doktorskih studija iz molekularnih i ćelijskih prirodnih nauka, Vajoming, SAD

² Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Katedra za parazitske bolesti, Beograd, Srbija

³ Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu, Katedra za bolesti kopitara, mesojeda, živine i divljači, Beograd, Srbija

Kratak sadržaj

Parazitske bolesti mačaka svrstavaju se u red najčešćih oboljenja kod ove vrste životinja. Paraziti narušavaju homeostazu organizma na više načina: direktnim specifičnim patogenim delovanjem, mehaničkim smetnjama, izazivanjem stanja preosetljivosti... Neke parazitoze mačaka imaju i zoonozni karakter, izazivajući ozbiljna oboljenja ljudi. Na području Beograda prisutni su različiti ektoparaziti i endoparaziti, čija je zastupljenost u direktnoj vezi sa načinom života mačaka, kao i preventivnim merama koje po tom pitanju preduzimaju njihovi vlasnici. Utvrđeno je prisustvo đardijaze, kokcidioze, toksokaroze, ankilostomatidoze, pulicidoze, heilecijeloze i *Otodes tes* šuge. Prevalenca je značajno veća u uslovima grupnog držanja mačaka i pri slobodnom držanju, za razliku od jedinki držanih u kontrolisanim i zatvorenim uslovima. Međutim, adekvatnom preventivom moguće je napraviti balans između dobrog zdravstvenog stanja i dobrobiti jedinke, čak i u većim populacijama.

Ključne reči: mačke, parazitoze, beogradsko područje, zoonoze

¹ E-mail: tigister@gmail.com

PARASITIC DISEASES IN CATS IN BELGRADE AREA WITH SPECIAL EMPHASIS ON ZONOSES

Vladimir Lažetić¹, Tamara Ilić², Vojislav Ilić³, Sanda Dimitrijević²

¹University of Wyoming, Graduate program in molecular
and cellular life sciences, Laramie, Wyoming

²Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade,
Department of Parasitic Diseases, Belgrade, Serbia

³Faculty of Veterinary Medicine University of Belgrade, Department of Diseases
of Ungulates, Carnivores, Poultry and Wild Animals, Belgrade, Serbia

Abstract

Parasitoses in cats are one of the most common diseases of this species. Parasites violate homeostasis of organism by their specific pathogenic mechanisms, mechanically, by making their hosts hypersensitive... Some cat parasitoses have zoonotic character, too, provoking serious diseases of people. In Belgrade area there are different ectoparasites and endoparasites, which representation is directly linked with cat's way of life, and also with preventive actions that are taken by their owners on that issue. It has revealed the presence of giardiasis, coccidiosis, toxocariasis, ancylostomatidosis, pulicosis, cheyletielosis and *Otodectes* mange. Prevalence is significantly higher when cats are kept in groups and if they are free to go outside, unlike specimens held in controlled and indoor conditions. However, by adequate preventive measures, it is possible to make a balance between good health state and animal welfare, even in large populations.

Key words: cats, parasitoses, Belgrade area, zoonoses

UVOD

S obzirom da je mačka, odmah posle psa, najčešći kućni ljubimac u Beogradu, istraživanja prisustva parazita značajna su sa stanovišta zaštite zdravlja ljudi i životinja. Ljudi mogu da budu pravi, prelazni ili parateni domaćini, a takođe mogu da obole i posredno, usled mehaničkog, alergološkog, toksičnog i vektorskog delovanja parazita, koji primarno parazitiraju kod mačaka. Gradska sredina podstiče moderne trendove uzgoja mačaka u stanovima, pri čemu se ostvaruje veoma prisutan kontakt između čoveka i ljubimca. Deljenjem prostora, a često i hrane, stiču se uslovi za prenos različitih zoonoz, što zahteva sinergizam u radu veterinarske i medicinske struke.

Od oboljenja mačaka protozoarne etiologije za humanu medicinu najveći značaj imaju dardijaza i kokcidioza (sa sumnjom na toksoplazmozu). Obolje-

nje ljudi prouzrokovano vrstom *Giardia lamblia* može da se javi u asimptomatskom obliku ili izaziva različite kliničke manifestacije, kada može da protiče akutno (steatoreja, intermitentni proliv, gubitak telesne mase), subakutno ili hroničnim tokom (peptični ulkus želuca, oboljenje žučne kese) (Nikolić i sar., 2002). Sa kliničkog aspekta, najznačajnija je primoinfekcija žena vrstom *Toxoplasma gondii* tokom trudnoće (ili neposredno pre nje), zato što može da dovede do pobačaja ili rađanja kongenitalno inficiranog deteta, sa ili bez kliničkih manifestacija na rođenju (Elmore i sar., 2010).

Za pojedine vrste nematoda koje primarno parazitiraju kod mačaka, čovek je parateni domaćin. Infekcija nastaje peroralno, a neke vrste mogu i aktivno da penetriraju kroz kožu. *Toxocara mystax* (zajedno sa vrstom *Toxocara canis*) je najčešći uzročnik oboljenja migrirajuće larve čoveka (larva migrans), a ređe to mogu biti i vrste *Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma tubaeforme* i *Uncinaria stenocephala* (Overgaauw, 1997; Bowman i sar., 2003; Bowman i sar., 2010).

Ektoparazitoze su značajne sa aspekta vektorskog prenošenja važnih bolesti u humanoj medicini. Mogu da prouzrokuju dermatološke probleme (pruritusne lokalizovane promene na koži) i hipersenzitivne reakcije. Pored estetskih problema, mogu da nastanu različite sekundarne infekcije i bolnost (Perez-Osorio i sar., 2008; Eisen i sar., 2008; Asano i sar., 2010).

MATERIJAL I METODE RADA

Ispitivanje je obuhvatilo 232 mačke sa teritorije grada Beograda i sprovedeno je na opština Vračar, Savski venac, Stari grad, Palilula, Voždovac, Zvezdara, Čukarica, Rakovica, Novi Beograd i Zemun. U cilju dijagnostikovanja endoparazita ispitivani su uzorci feca poreklom od mačaka gajenih u relativno kontrolisanim uslovima (jedinke koje žive u kućnim uslovima, pojedinačno ili u manjoj grupi) i uzorci iz beogradskih azila (pojedinačni i zbirni). Feces mačaka latalica nije mogao da bude uključen u ispitivanje zbog higijenskog ponašanja ovih jedinki u prirodi, odnosno njihove navike da zatravljaju feces u podlogu.

Za dijagnostiku endoparazitoza korišćene su kvalitativne metode koprološkog pregleda sa koncentracijom parazitskih elemenata: metoda flotacije sa zasićenim vodenim rastvorom natrijum-hlorida (specifične težine 1,200 na 20°C) i metoda flotacije sa zasićenim vodenim rastvorom cink-sulfata (specifične težine 1,300-1,400). U cilju dokazivanja razvojnih oblika *Giardia lamblia*, preparat je dodatno bojen kalijum-jodidom. Koprološka dijagnostika je obavljena na Katedri za parazitske bolesti Fakulteta veterinarske medicine u okviru redovne kontrolne i preventivne dijagnostike, koja se sprovodi kod mačaka sa teritorije Beograda, a rađena je na zahtev vlasnika u drugoj polovini 2010. i

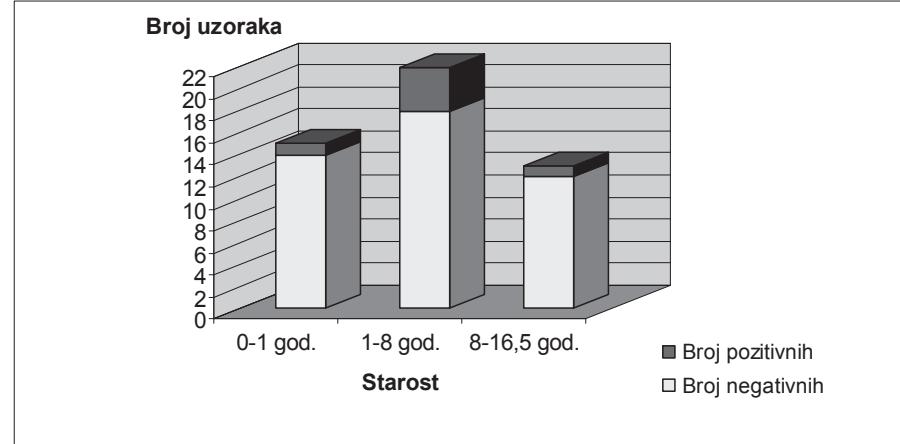
prvoj polovini 2011. godine.

Za dijagnostiku ektoparazitoza prikupljan je sadržaj iz spoljašnjeg ušnog kanala, kao i uzorci dlake sa sadržajem na njoj. Pregled je rađen kod mačaka iz Beograda, koje su dovođene u dermatološku ambulantu klinike Fakulteta veterinarske medicine tokom 2010. godine. Za dokazivanje prisustva buva i drugih vidljivih ektoparazita, korišćen je vizuelni pregled na prisustvo živih parazita ili njihovog feca u krvnu mačaka. Za razliku od pasa, kod mačaka je teže uočiti buve u krvnu, osim u slučaju infekcija visokog intenziteta. Zato je najčešće rađen takozvani test sa belim papirom. On se izvodi tako što se zadnjim delom tela mačka postavi da sedi na čistoj hartiji, pa se energičnim českanjem leđa iz njenog krvna istresa sadržaj. U slučaju prisustva buva, na papiru se vidi taman feca buva, koji se sastoji od ostataka krvi domaćina. Kako bi se takav materijal razlikoval od komadića zemlje i prljavštine, neophodno je da se on razvuče navlaženom vatrom duž papira, pri čemu ostaje crveni trag krvi.

U dijagnostici *Otodectes* šuge korišćeni su štapići sa vatrom, kojima je uzorkovan sadržaj iz spoljašnjeg ušnog kanala (ušni bris). Moguće je vršiti i skarifikaciju kože oštom kašikom, naročito kod ektopične infekcije, koja podrazumeva postojanje kožnih lezija (obično na glavi, vratu, krstima i šapama), sa ili bez prisutnog zapaljenja spoljašnjeg ušnog kanala.

REZULTATI

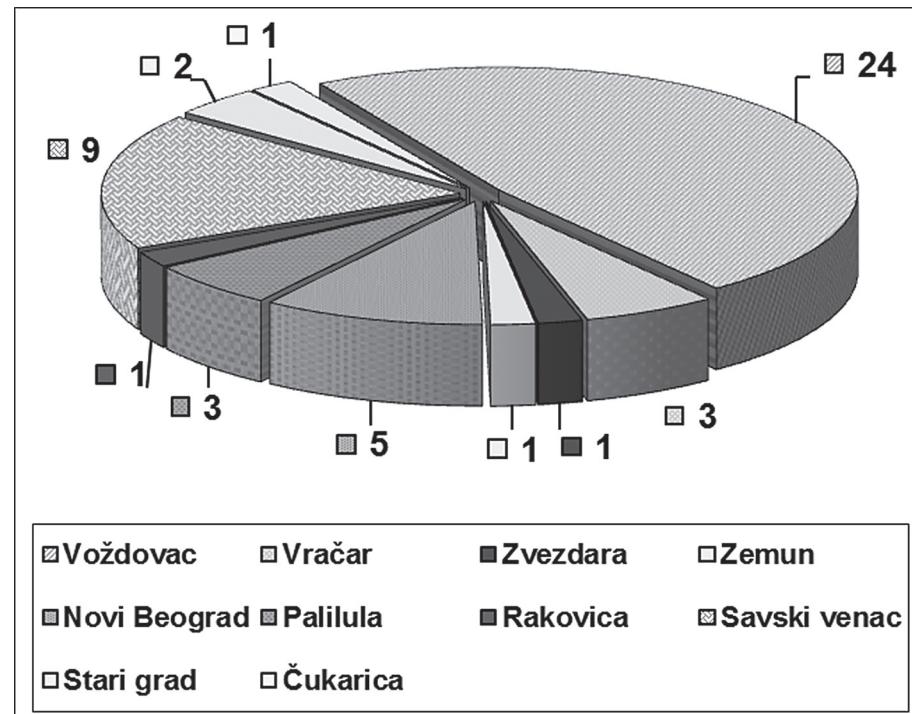
Istraživanje parazitskih infekcija mačaka na beogradskom području, koje je sprovedeno u ovom radu, obuhvatilo je koprološku ili dermatološku analizu uzoraka poreklom od 232 mačke. Pregledani su pojedinačni uzorci feca poreklom od 50 mačaka, kao i zbirni uzorci koji reprezentuju 97 mačaka (63 mačke iz azila na oštini Palilula, 12 mačića sa Vračara, 7 jedinki iz Zemuna i 15 mačaka iz zemunskog azila). Ispitivanjem su obuhvaćene jedinke oba pola, starosti od 2 meseca do 16,5 godina. Analize su sprovedene u drugoj polovini 2010. i prvoj polovini 2011. godine (Grafikon 2). Na prisustvo ektoparazita je pregledano 85 mačaka.



Grafikon 1. Prikaz odnosa pozitivnih i negativnih uzoraka feca na koprološku analizu po starosnim kategorijama

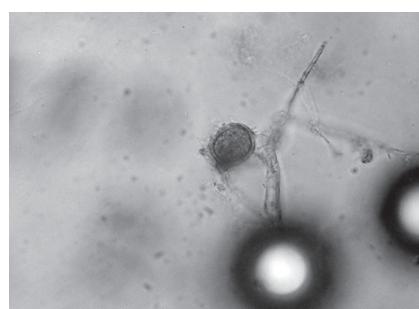
Pojedinačni uzorci potiču od 28 ženki i 22 mužjaka sa područja deset opština. Sa teritorije opštine Voždovac su prikupljena 24 uzorka, 9 sa Savskog venca, 5 sa Novog Beograda, po 3 sa Vračara i Palilule, 2 iz opštine Stari grad, a po 1 sa Zvezdare, Čukarice, iz Zemuna i Rakovice. Endoparaziti su utvrđeni kod 6 mačaka, što je iznosilo 12% od ukupnog broja pregledanih životinja (6/50). Pregledano je 15 mačaka starosti do godinu dana (8 ženki i 7 mužjaka), 22 jedinke starosti od 1 do 8 godina (po 11 ženki i mužjaka) i 13 mačaka starijih od 8 godina (8 ženki i 5 mužjaka).

U starosnoj kategoriji do 1 godine utvrđen je jedan pozitivan uzorak, što je iznosilo 6,67% od ukupnog broja pregledanih životinja (1/15). Kod mačaka starih između 1 i 8 godina pozitivno je bilo 4 uzorka, odnosno 18,18% od ukupnog broja pregledanih životinja (4/22). Od 13 pregledanih mačaka starih preko 8 godina, kod jedne je ustanovljen pozitivan nalaz na endoparazite, što je iznosilo 7,69% od ukupnog broja pregledanih životinja (1/13) (Grafikon 1).

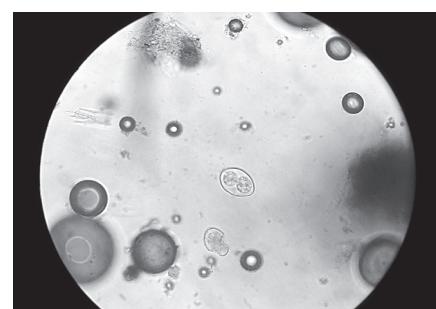


Grafikon 2. Prikaz broja uzoraka fecesa uzorkovanih u pojedinim beogradskim opštinama

Giardia lamblia je dijagnostikovana u 2 slučaja: kod ženke stare 15 godina (Novi Beograd) i kod mužjaka starog 1,5 godina (Čukarica). Statistički to je 4% pozitivna uzorka od ukupnog broja pojedinačnih uzoraka (2/50) (Slika 1). Kokcidija, koja po svom izgledu najviše podseća na vrste iz roda *Isospora* i *Toxoplasma*, utvrđena je kod šestogodišnjeg mužjaka (Savski venac). Prevalenca infekcije iznosila je 2% (1/50) (Slika 2).

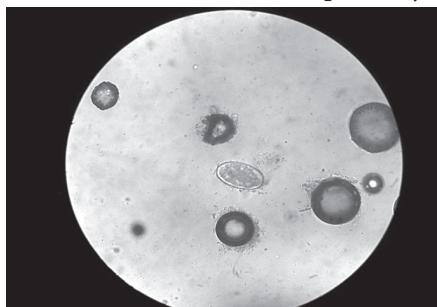


Slika 1. Cista *Giardia lamblia* (original)

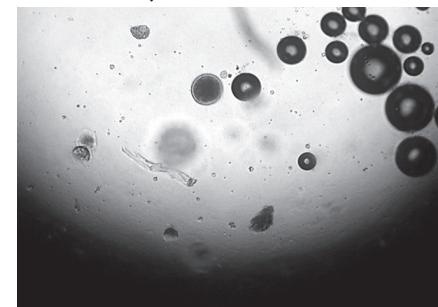


Slika 2. Oocista kokcidije (original)

Jaja ankilostomatida su ustanovljena kod jedne ženke (Zemun), starosti 2 godine, što je iznosilo 2% od ukupnog broja ispitanih jedinki (1/50) (Slika 3). *Toxocara mystax* je dijagnostikovana u 2 pojedinačna uzorka: kod ženke stare 5 meseci (Savski venac) i ženke stare 1 godinu (Palilula). Zastupljenost ove nematode u odnosu na ukupan broj mačaka iznosila je 4% (2/50) (Slika 4).



Slika 3. Jaje ankilostomatida (original)



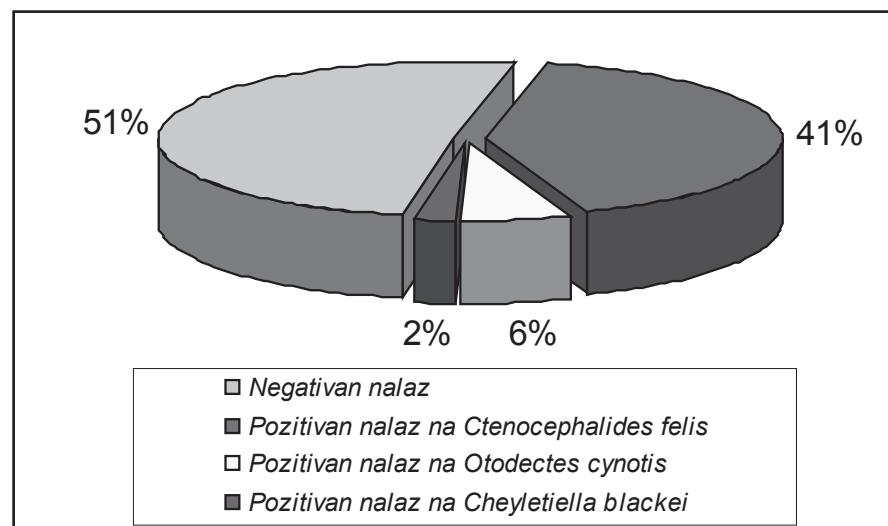
Slika 4. Jaje *Toxocara mystax* (original)

Pri pregledu zbirnih uzoraka, paraziti su dijagnostikovani samo kod mačaka iz azila na opštini Palilula. Od ukupnog broja mačaka koje su boravile u azilu (63 mačke - 41 ženka i 22 mužjaka, starosti od 6 meseci do 10 godina), 47 jedinki je bilo inficirano ovom askarididom. Ustanovljena prevalenca infekcije je iznosila 74,6% (47/63).

Na prisustvo ektoparazita je pregledano 85 mačaka, različitih starosnih kategorija, oba pola, koje se većinom gaje u relativno kontrolisanim uslovima. Pozitivan nalaz na ektoparazite ustanovljen je kod 42 mačake, što čini 49,41% od ukupnog broja ispitanih jedinki (42/85). Od tog broja, kod 35 mačaka su ustanovljene buve (41,18%, odnosno 35/85), kod 5 šugarci iz roda *Otodectes* (5,88%, odnosno 5/85), a kod dve mačke *Cheyletiella blackei* (2,35%, odnosno 2/85) (Grafikon 4, Slika 5).



Slika 5. *Otodectes cynotis* (original)



Grafikon 3. Prikaz pozitivnih i negativnih nalaza na ektoparazite

Od ukupno 35 jedinki koje su bile inficirane buvama, 21 je bila ženskog, a 14 muškog pola. Sedam je bilo starosti do 6 meseci (3 ženke i 4 mužjaka), četiri od 6 meseci do 1,5 godine (po 2 ženke i 2 mužjaka), osam starosti od 1,5 do 5 godina (5 ženki i 3 mužjaka) i šesnaest starih preko 5 godina (11 ženki i 5 mužjaka) (Grafikon 5). *Otodectes* šuga je utvrđena kod četiri ženke i jednog mužjaka. *Cheyletiella blackei* je dijagnostikovana kod jednog mužjaka i jedne ženke (Grafikon 3).



Grafikon 4. Prikaz broja jedinki pozitivnih na prisustvo buva u odnosu na pol i starost

DIJAGNOSTIKOVANO OBOLJENJE	PREVALENCA (u odnosu na broj pojedinačnih uzoraka)
ĐARDIJAZA	4,00 %
KOKCIDIOZA	2,00 %
ANKILOSTOMATIDOZA	2,00 %
TOKSOKAROZA	4,00 %
PULICIDOZA	41,18 %
ŠUGA	5,88 %
HEILECIJELOZA	2,35 %

Tabela 1. Prikaz prevalenci iskazanih u procentima za dijagnostikovana oboljenja (u odnosu na broj pojedinačnih uzoraka)

DISKUSIJA

Istraživanjem parazitskih infekcija mačaka na beogradskom području, ustanovljeni su uzročnici đardijaze, kokcidioze, toksokaroze, ankilostomati-doze, pulicidoze, heilecijeloze i *Otodectes* šuge. Utvrđene vrste parazita mogu da izazovu oboljenja kod čoveka, što ukazuje na njihov dodatni značaj i neophodnost sprovođenja terapijskih i preventivnih mera u cilju smanjenja stepena infekcije dokazanim parazitima (Lažetić, 2011).

Kod ispitivanih mačaka utvrđena je prevalenca infekcije vrstom *G. lamblia* od 4%, dok je prevalenca infekcije kokcidijama iznosila 2%.

Đardijaza je rasprostranjena kod ljudi koji žive u nehigijenskim uslovima i može da dovede do ozbiljnih enteralnih tegoba. Iako procene variraju, smatra se da je od 5-43% (u proseku 20%) svetske populacije inficirano parazitom *G. lamblia*, naročito u nerazvijenim zemljama. Prevalenca infekcije u razvijenim zemljama varira od 3-7% (Rockwell i sar., 2003). Kod ljudi u Severnoj Americi prevalenca na đardijazu iznosi 1-5% (Olson, 2001). Godine 1999. Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Država (United States Environmental Protection Agency Washington), je izdala izveštaj o kretanju prevalence na đardijazu: u Južnoj Americi kretala se od 2-40%, u Evropi od 4-68%, u Aziji od 4-72%, u Africi od 2-57%, a u Sjedinjenim Državama od 7-15%.

Kod ljudi u Srbiji ova crevna protzoza je često dijagnostikovana, a kod dece sa područja Beograda dokazana je prevalenca infekcije od 8,0% (Nikolić i sar., 2001). Pouzdani podaci o učestalosti i rasprostranjenosti đardijaze u zemljama zapadnog Balkana (Srbija, Bosna i Hercegovina, Hrvatska, Crna Gora i Makedonija) su malobrojni. Zbog značaja za javno zdravlje u celoj Evropi, neophodno je poznavati epidemiološke karakteristike i identifikovati ostale faktore rizika za asimptomatske i simptomatske infekcije ljudi u Srbiji (Nikolić i sar., 2011).

Od kokcidioza u širem smislu, posebnu opasnost za trudnice predstavlja *Toxoplasma gondii*, zbog njenih abortivnih i teratogenih svojstava, što ima i demografski značaj. Kongenitalna toksoplazmoza je veoma ozbiljan klinički entitet, pošto praktično svi nelečeni slučajevi završavaju neurološkim ili oftalmološkim poremećajima. Kongenitalna, kao i stečena hronična (latentna) infekcija mogu da se reaktiviraju u stanjima imunosupresije (kod obolelih od virusa humane imunodefijencije (HIV) i u slučaju dugotrajne imunosupresivne terapije) (Elmore i sar., 2010).

U cilju procene globalnog statusa seroprevalencije *T. gondii*, Pappas i sar. (2009) su prikupili literaturne podatke objavljene u poslednjoj deceniji, koji se odnose na trudnice i žene u reproduktivnom periodu. Prema ovim podacima seroprevalenca toksoplazmoze se kretala: u Americi od 6,1% (Meksiko) do 77,5% (Brazil), u Evropi od 8,2% (Švajcarska) do 63,2% (Nemačka), u Aziji od 0,8% (Korea) do 63,9% (Iran) i u Africi od 25,3% (Burkina Faso) do 75,2% (Sao Tome). Bobić i sar. (2007) izveštavaju o seroprevalenciji toksoplazmoze kod trudnica u Srbiji, koja se kretala 29,7 do 36,3%.

Prevalanca infekcije nematodom *T. mystax*, kod mačaka sa područja Beograda, iznosila je 4%, kod jedinki čiji su pojedinačni uzorci ispitani. Kod tri četvrtine zbirnih uzoraka mačaka iz azila na opštini Palilula, ustanovljena je prevalanca infekcije ovom askarididom, koja je iznosila 74,6% (47/63). Međutim, realno je pretpostaviti da je broj inficiranih mačaka veći, s obzirom da one žive zajedno u ograničenom prostoru. Prevalanca infekcije vrstama iz familije *Ancylostomatidae* iznosila je 2%.

Infektivne larve askaridida, ankilostomatida i strongiloidesa migriraju po organizmu čoveka, pri čemu ne dostižu zrelost, jer se ne nalaze u specifičnom domaćinu. Migracija traje različiti vremenski period, sve dok larva ne bude blokirana zapaljenskom reakcijom i formiranjem granuloma ili dok ona prirodno ne ugine (Bowman i sar., 2010; Titova, 2011). Larva migrans se sve češće dijagnostikuje, a njen nastanak je u direktnoj vezi sa dokazanim nematodama i njihovim srodnicima koji parazitiraju kod drugih vrsta. Carvalho i Rocha (2011) izveštavaju da se seroprevalenca visceralne larve migrans, prouzrokovane vrstama iz roda *Toxocara* kod dece u Libanu, Venecueli i Šri Lanki, kretala od 9,7 do 43%, dok su seroepidemiološke studije toksokarioze kod ljudi u Brazilu pokazale varijaciju u opsegu od 7,5 do 53,3% (Muradian i sar., 2005; Figueiredo i sar., 2005). *Ancylostoma tubaeforme* je ustanovljena kod domaćih mačaka širom sveta, a prevalanca infekcije u Evropi i SAD se poslednjih godina kretala od 0-75% i najveća je bila kod divljih mačaka i mačaka latalica (Petry i sar., 2011).

Kod mačaka sa beogradskog područja ustanovljena je prevalanca infekcije ektoparazitima od 49,41%. Prisustvo buva utvrđeno je kod 41,18% ispitanih

jedinki, ušni šugarci kod 5,88%, a *Cheyletiella blackei* kod 2,35% jedinki. Najčešći razlog za dovođenje životinja na pregled bio je izraženi svrab, a često i promene na koži i dlaci. U vezi sa pulicidozom često je bila prisutna i alergija na salivu buve. U drugim slučajevima slične simptomatologije, najčešće su u pitanju bile alergijske reakcije na hranu, kontaktni dermatitisi i atopije, što ih čini važnim u diferencijalnoj dijagnostici (Lažetić, 2011).

Od ektoparazita buve imaju poseban značaj zbog mogućnosti nastanka alergijske reakcije i vektorskog prenošenja različitih bolesti (kuga, rikecioza i bartoneloza) (Perez-Osorio i sar., 2008). Kuga danas ima više istorijski značaj za područje Srbije, ali njena sporadična pojava u nekim zemljama (SAD, Peru, Kina, Mongolija, Indija, Vijetnam, Rusija, Kazahstan, Uganda, Tanzanija, Mozambik) zahteva poseban oprez pri uvozu životinja, koje mogu da budu nosioci inficiranih buva (Eisen i sar., 2008). Rikecioza prouzrokovana vrstom *Rickettsia felis* predstavlja formu tifusa koja se sve češće javlja kod ljudi. Najčešće protiče u blažem obliku sa povиšenom temperaturom, malaksalošću, glavoboljom, gastrointestinalnim poremećajima, otokom limfnih čvorova i kožnim osipom. Ponekad može da se javi u obliku hepatitisa sa značajnim oštećenjima jetre, što zahteva hospitalizaciju ljudi (Zavala-Castro i sar., 2009; Richards i sar., 2010).

Buve i krpelji su rezervoari uzročnika bartoneloze (*Bartonella henselae*). Eksperimentalno je dokazana mogućnost inficiranja mačke fecesom buve preko kožnih lezija (Foil i sar., 1998). Najčešći oblik bartoneloze ljudi je tipična (klasična) bolest mačje ogrebotine, kada se uzročnik prenosi na čoveka ujedom ili ogrebotinom zadobijenom od inficirane mačke (uglavnom mačića, jer je kod njih najčešće prisutna bakterijemija). Simptomi bolesti mačje ogrebotine najčešće se zapažaju kod dece u vidu dugotrajne limfadenopatije i papularnog dermatitisa na mestu ujeda ili ogrebotine (Bouchouicha i sar., 2009; Asano i sar., 2010).

Radi suzbijanja prisutnih endoparazitoza neophodno je sprovoditi plansku dehelmintizaciju mačaka, nakon urađenog koprološkog pregleda. Pošto je ovakav pristup retka pojava u praksi, preporučuje se redovna dehelmintizacija u određenim vremenskim razmacima, koji se procenjuju u zavisnosti od rizika za nastanak parazitoza i u skladu sa načinom života mačke. Preporučuje se i davanje antihelmintika 3-7 dana pre vakcinacije, zbog toga što bi aktivni imunološki odgovor na prisutne parazite doveo do delimičnog iscrpljenja obrambenih mehanizama domaćina. To bi dalje umanjilo imunološki odgovor na vakinalni antigen, pa bi zaštita životinje bila nepotpuna ili bi trajala kraće od predviđenog vremenskog perioda.

Čest problem u suzbijanju parazitskih infekcija mačaka predstavlja i nepravilan izbor lekova. Zbog cene ili neznanja, vlasnici se često odlučuju da

kupe preparate koji u sebi sadrže aktivne supstance, koje deluju samo na jednu grupu endoparazita (na primer cestode). U slučaju da se pojavi određeni zdravstveni problem, vlasnik može da dovede u zabludu i veterinara, tako što će mu prilikom davanja anamnističkih podataka saopštiti da je mačku „očistio“ od parazita, naročito ako ne zna ime preparata koji je koristio. Stoga je na veterinaru da takve podatke uzme sa rezervom i koprološkim pregledom potvrdi svoje sumnje.

Sigurno je da ovim istraživanjem nisu dijagnostikovane sve parazitoze mačaka koje se inače javljaju na teritoriji Beograda. Relevantniju sliku pružila bi ispitivanja na mačkama kućnim ljubimcima koje se slobodno kreću i mačkama latalicama, s obzirom da one predstavljaju glavne rezervoare parazita. To bi zahtevalo učešće većeg broja ljudi i sredstava za terenski rad.

S obzirom na zoonozni potencijal gotovo svih utvrđenih parazita, dobijeni rezultati su od značaja i za humanu medicinu. Štiteći zdravlje svojih ljubimaca, vlasnici štite i svoje zdravlje. Zato je neophodno podizanje svesti građana o neophodnosti sprovođenja zoohigijenskih mera u uzgoju mačaka, o značaju sprovođenja kauzalne redovne dehelmintizacije i zaštite od ektoparazita, kao i o važnosti sprovođenja češćih koproloških pretraga na prisustvo protozoa.

NAPOMENA

Rad realizovan po Projektu „Praćenje zdravstvenog stanja divljači i uvođenje novih biotehnoloških postupaka u detekciji zaraznih i zoonoznih agenasa - analiza rizika za zdravlje ljudi, domaćih i divljih životinja i kontaminaciju životne sredine“ (broj TR31084) i Projektu „Primena EIIP/ISM bioinformatičke platforme u otkrivanju novih terapeutskih targeta i potencijalnih terapeutskih molekula“ (broj 173001), koje je finansiralo Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije.

Rad je baziran na rezultatima diplomskog rada doktora veterinarske medicine Lažetić Vladimira.

LITERATURA

- Asano T., Ichiki K., Koizumi S., Kaizu K., Hatori T., Fujino O.: High prevalence of antibodies against *Bartonella henselae* with cervical lymphadenopathy in children. *Pediatr Int.*, 52, 4, 533-535, 2010
- Bobic B., Nikolic A., Klun I., Vujanic M., Djurkovic-Djakovic O.: Undercooked meat consumption remains the major risk factor for *Toxoplasma* infection in Serbia. *Parassitologia*, 49, 227-230, 2007
- Bouchouicha R., Durand B., Monteil M., Chomel B. B., Berrich M., Arvand M., Birtles J. R., Breitschwerdt B. E., Koehler E. J., Maggi R., Maruyama S., Kasten R., Petit E., Boulouis J. H., Haddad N.: Molecular epidemiology of feline and human *Bartonella henselae* isolates. *Emerg Infect Dis*, 15, 5, 813-816, 2009
- Bowman D. D., Barr C. S., Hendrix M. C., Lindsay S. D.: Gastro-intestinal parasites of cats. *Companion and Exotic Animal Parasitology*. Bowman DD (Ed.), Ithaca, New York, USA, 2003
- Bowman D. D., Montgomery S. P., Zajac A. M., Eberhard M. L., Kazacos K. R.: Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. *Trends Parasitol*, 26, 4, 162-7, 2010
- Carvalho E. A. A., Rocha R. L.: Toxocariasis: visceral larva migrans in children. *Journal de Pediatria*, 87, 2, 101, 2011
- Eisen R. J., Borchert J. N., Holmes J. L., Amatre G., Van Wyk K., Enscore R. E., Babi N., Atiku L. A., Wilder A. P., Vetter S. M., Bearden S. W., Montenieri J. A., Gage K. L.: Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and their potential role as vectors in a plague-endemic region of Uganda. *Amer J Trop Med Hyg*, 78, 6, 949-956, 2008
- Elmore S. A., Jones L. J., Conrad A. P., Patton S., Lindsay S. D., Dubey P. J.: *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects and prevention. *Tre Par*, 920, 1-7, 2010
- Figueiredo S. D., Taddei J. A., Menezes J. J., Novo N. F., Silva E. O., Cristóvão H. L.: Estudo clínico-epidemiológico da toxocariase em população infantil. *J Pediatr (Rio J)*, 81, 126-132, 2005
- Foil L., Andress E., Freeland R. L., Rutledge R., Triche P. C., O'Reilly K. L.: Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) feces. *J Med Entomol*, 35, 5, 625-628, 1998
- Lažetić V.: Parazitske bolesti mačaka na beogradskom području sa posebnim osvrtom na zoonoze. Diplomski rad, Beograd: Fakultet veterinarske medicine, 2011
- Muradian V., Gennari S. M., Glickman L. T., Pinheiro S. R.: Epidemiological aspects of visceral larva migrans in children living at São Remo Community, São Paulo (SP), Brazil. *Vet Parasitol*, 134, 93-97, 2005
- Nikolic A., Dimitrijevic S., Bobic B.: Canine giardiosis in an urban area: a possible source on infection of man. *J Protozool Res*, 11, 61-65, 2001
- Nikolić A., Klun I., Bobić B., Ivović V., Vujanić M., Zivković T., Djurković-Djaković O.: Human giardiasis in Serbia: asymptomatic vs symptomatic infection. *Parasite*, 18, 2, 197-201, 2011
- Nikolić A., Dimitrijević S., Đurković-Đaković O., Bobić B., Maksimović-Mihajlović O.: Giardiasis in dogs and cats in the Belgrade area. *Acta Vet*, 52, 1, 43-48, 2002

16. Overgaauw P. A. M.: General introduction aspects of toxocara epidemiology. *Human toxocarosis. Critical Rev Microbiol*, 23, 215-231, 1997
17. Pappas G., Roussos N., Falagas E. M.: Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol*, 39, 1385-1394, 2009
18. Pérez-Osorio C. E., Zavala-Velázquez J. E., Arias León J. J., Zavala-Castro J. E.: *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. *Emerg Infect Dis*, 14, 7, 1019-1023, 2008
19. Petry G., Kruedewagen E., Bach T., Gasda N., Krieger J.K.: Efficacy of Procox® oral suspension for dogs (0.1% Emodepside and 2% Toltrazuril) against experimental nematode (*Toxocara cati* and *Ancylostoma tubaeforme*) infections in cats. *Parasitol Res*, 109, S37-S45, 2011
20. Richards A. L., Jiang J., Omulo S., Dare R., Abdirahman K., Ali A., Sharif S. K., Feikin D. R., Breiman R. F., Kariuki Njenga M.: Human infection with *Rickettsia felis*, Kenya. *Emerg Infect Dis J*, 16, 7, 1081-1086, 2010
21. Titova N. D.: Клиническое значение спектра антител и клеточной сенсибилизации к антигенам токсокара у детей с аллергическими заболеваниями. *Журнал "Педиатрия"*, 90, 46-51, 2011
22. United States Environmental Protection Agency Washington, Office of Science and Technology, Office of Water. EPA-823-R-99-011, DC 20460, pp. 1-73, 1999
23. Zavala-Castro J., Zavala-Velázquez J., Walker D., Pérez-Osorio J., Peñiche-Lara G.: Severe human infection with *Rickettsia felis* associated with hepatitis in Yucatan, Mexico. *Int J Med Microbiol*, 299, 7, 529-533, 2009

Primljeno: 15.09.2012.

Odobreno: 01.11.2012.

Stručni rad

UDK 339.138:619

MARKETING USLUGA SAVREMENE VETERINARSKE PRAKSE

Vaso Vidić¹

Naučni institut za vetrinarstvo "Novi Sad", Novi Sad, R. Srbija

Kratak sadržaj

Marketing kao naučna disciplina nema tako dugu istoriju, iako su se tehnike marketinga koristile stotinama godina unazad. Nastao je i razvijao se u SAD odakle se proširio na ostatak sveta. Svoju punu afirmaciju marketing je stekao sredinom prošlog veka zahvaljujući promenama koje su se dešavale: pre svega porast ponude proizvoda u odnosu na tražnju, sve jača konkurenca, promene u željama i potrebama potrošača, njihovom obrazovanju i životnom standardu. Pregledom stručne literature vidi se da ne postoji jedinstvena definicija marketinga, već da svaki autor ima svoj pogled na to što, u stvari, marketing predstavlja. Osnovno za sve ove definicije jeste da je marketing niz poslovnih aktivnosti usmerenih na kreiranje i zadržavanje kupaca kroz zadovoljavanje njihovih potreba. Marketing ima dva cilja. Prvi je da privuče nove klijente naglašavajući potencijalnu vrednost proizvoda ili usluge koji se nude. Drugi je da zadrži postojeće klijente tako što će oni biti permanentno zadovoljni uslugom ili proizvodom, time što će se prevazilaziti njihova očekivanja i uvek im se pružati više. Za razliku od SAD-a, gde je na implementaciji marketinga u veterinarskoj delatnosti i razvoju svesti kod vetrinara najviše urađeno, kako u teoriji tako i u praksi, pre svega o prednostima prihvatanja marketing filozofije, u Srbiji se ova tema nije značajnije izučavala. Cilj marketinga u veterinarskoj delatnosti je da izgradi uzajamno profitabilne dugoročne odnose sa klijentima, a ne samo da proda određeni proizvod ili uslugu. Da bi se ovo ostvarilo, neophodno je upoznati klijente, njihove želje, potrebe i probleme. Na taj način stvaraju se uslovi da im se proda odgovarajući proizvod ili pruži usluga. Bez obzira na lične razloge pojedinaca da se odluče za veterinarsku delatnost, a pre svega poslove male prakse, potrebno je ovu delatnost posmatrati kao i svaki drugi posao koji treba da obezbedi profit. Da bi se ovo postiglo, neophodno je usvojiti marketinški način razmišljanja i upravljati marketingom. Temeljni instrumenati marketinga su proizvod, cena, promocija i mesto koji čine takozvani marketing miks koji se može primeniti i na veterinarsku

¹ E-mail: vaso@niv.ns.ac.rs

praksi. U veterini proizvod se odnosi ili na potrošne stavke, kao što su lekovi ili hrana, ili na usluge veterinara. Kod utvrđivanja cene, polazna osnova mora biti cena koštanja, na koju se dodaje marža koja zavisi od vrste proizvoda i usluge koja se nudi. Promocija predstavlja komunikaciju sa vlasnicima životinja o proizvodima i uslugama koje se nude i o karakteristikama klinike ili ambulante. Za razliku od drugih delatnosti, lokacija veterinarske organizacije nema toliku važnost, ali svakako mora biti u funkciji dobrog poslovanja sa vlasnikom životinja. Celokupno iskustvo klijenta od ulaska u kliniku ili ambulantu do izlaska mora biti profesionalno, ugodno i efikasno. Samo ako se ovo ostvari moguće je biti konkurentan ili čak naplatiti više za superiornu uslugu.

Ključne reči: marketing, veterinarska praksa

MARKETING IN MODERN VETERINARY PRACTICE SERVICES

Vaso Vidić

Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad, Republic of Serbia

Abstract

In some ways, marketing techniques have been used for the passed hundreds of years, but marketing as a scientific discipline emerged only recently. The basic concepts of marketing were discovered and developed in the U.S.A. and then spread worldwide. Starting in the 1950s, marketing underwent a full affirmation due to new developments such as increased supply compared to the demand, growing competition, changes in consumer's needs and desires, as well as their education level and improved standard of living. An overview of available literature indicated a lack of an integral definition of marketing, that is, various authors have diverse approaches to marketing concept. The basic element of all definitions is the idea that marketing is a range of business activities aimed at gaining new customers and keeping the existing ones by satisfying their needs. The main goals of marketing are the following: firstly, to attract new customers by emphasizing the potential value of the product or service offered and secondly, to keep the existing customers by keeping them satisfied with the product or service by constantly producing superior value and exceeding their *expectations*. Contrary to the U.S.A., where greatest achievements were accomplished in the field of marketing theory and application and its implementation into veterinary practice, as well as in appropriate perception of importance of marketing idea and philosophy, this issue has not

been appropriately addressed in our country. The main goal of marketing in veterinary practice is not only to sell a product or service, but also to create mutual profitable long-term relations with clients. To that aim, it is essential to know the client, his requirements, demands and problems. This is the way to provide conditions for selling appropriate product or service. Disregarding personal reasons for practicing veterinary medicine, particularly in small-animal practice, the veterinarian should approach such practice as any other business activity that should provide profits. In that respect, it is of key importance to adopt marketing approach and management concept. The four basic marketing instruments are product, price, promotion and place that make so-called marketing mix, which is applicable also in the veterinary practice. In veterinary medicine, the product pertains to spent items (e.g. drugs, food) or veterinary services. By determining the price, the basis is the cost price and added profit margin, depending on the product or service offered. The promotion encompasses communication with the owners, presenting them products and services offered, describing the features of the clinic or infirmary, etc. Contrary to other business branches, position of veterinary unit is not so important, yet it must provide good communication with animal owner. The overall experience of the customer, starting from entering the clinic or practice until leaving it, must be professional, pleasant and effective. Only accomplishing this goal will enable competitiveness or justify even a higher price for a superior service.

Key words: marketing, veterinary practice

UVOD

Druga polovina dvadesetog veka je period intenzivnog razvoja marketinga kao naučne discipline i pre svega poslovne prakse. Postojale su, a i danas su prisutne brojne definicije o marketingu. U stručnoj javnosti ne postoji saglasnost oko jedinstvene definicije marketinga. Definicija Američke marketing asocijacije (AMA) glasi da je marketing aktivnost i set procesa za stvaranje, komuniciranje, distribuiranje i razmenu proizvoda i usluga koji imaju vrednost za kupce, klijente, partnere i društvo u celini (Kotler, 2008). Pride i Ferell navode da je marketing proces stvaranja, distribuiranja, promovisanja i određivanja cena proizvoda i usluga koji olakšava zadovoljavanje klijenata i razvija, i održava zadovoljavajuće odnose sa svim interesnim grupama u promenljivom okruženju. Suština marketinga po njima je razvijanje zadovoljavajućih odnosa razmene od kojih će i klijenti i firme imati koristi (Pride i Ferrell, 2010). Klijenti očekuju da ostvare korist u razmeni za cenu koju plaćaju u transakciji, dok firma očekuje da ostvari profit od naplaćene cene (Pride i Ferrell, 2010). Po

Kotleru cilj marketinga je da gradi uzajamno profitabilne dugoročne odnose sa klijentima, a ne samo da proda proizvod ili uslugu. Ovo od marketing menadžera zahteva da dovoljno dobro poznaju svoje klijente kako bi im pružili odgovarajuću ponudu proizvoda i usluga koje zadovoljavaju njihove potrebe (Kotler, 2003). Kotler definiše marketing kao poslovnu funkciju koja identifici-kuje neispunjene želje i potrebe, definiše i meri njihovu veličinu i potencijalnu profitabilnost, određuje koja ciljna tržišta organizacija može najbolje da usluži, odlučuje o odgovarajućim proizvodima i uslugama sa kojima će se izaći na tržišta i poziva sve u organizaciji da budu okrenuti ka zadovoljavanju klijenta (Kotler, 2003). Ova definicija možda najbolje obuhvata sve aspekte marketinga i najpreciznije ga određuje.

Marketinga ima dva osnovna cilja: privući nove mušterije naglašavajući potencijalnu vrednost proizvoda ili usluge koja se nudi, i zadržati postojeće klijente tako što će se neprekidno zadovoljavati i prevazilaziti njihova očekivanja proizvodom i uslugom (Moore i Pareek, 2010). U modernom poslovanju ovaj drugi zahtev je pokazao puno veći značaj u odnosu na prvi. Naime, istraživanja su pokazala da privlačenje novih klijenata može biti više puta skuplje nego zadržavanje postojećih. Takođe, ključna reč je prevazilaženje očekivanja klijenata jer više nije dovoljno "samo" zadovoljiti klijenta, potrebno ga je oduševiti, jer je samo to siguran put ka lojalnom klijentu, koji je svakako najvrednija imovina svake firme. Očigledno je da se bez marketinga u savremenom svetu ne može efikasno funkcionisati. Marketing spaja proizvodnju i potrošnju (ekonomski proces), potražnju i proizvodnju, a istovremeno je i naučna i nastavna disciplina.

Istorijski marketinga je izuzetno duga u praksi, iako se marketing kao naučna i nastavna disciplina pojavi u SAD-u relativno skoro - 1905. godine na Univerzitetu u Pensilvaniji. Kotler navodi mišljenje Drucker-a da je koncepcija marketinga bila prvi put prihvaćena u sedamnaestom veku u Japanu kada je porodica Mitsui otvorila nešto što se može nazvati prvom robnom kućom (Kotler, 1988). Marketing je u svojoj evoluciji prošao kroz tri faze (Pride i Ferell, 2010):

1. Orientacija na proizvode: u drugoj polovini XIX veka industrijska revolucija je bila u punom zamahu, a tražnja je uveliko nadmašivala ponudu proizvoda pa je cilj bio samo što više proizvesti i zadovoljiti tu tražnju.
2. Orientacija na prodaju: od 1920. do početka 1950. godine ponuda proizvoda raste uz smanjenje tražnje izazvano, pre svega, Velikom depresijom. Usled ovih dešavanja rastu prodajni napor, a najvažnije marketing aktivnosti su personalna prodaja, reklamiranje i distribucija.
3. Marketing orijentacija: uvidelo se da sama promocija ne može puno da uradi, moraju se otkriti želje i potrebe kupca i proizvesti takvi proizvodi, a

ne kao što je do tada rađeno proizvesti pa onda razmišljati šta sa proizvodom. Kupac nije protivnik. Potrebno ga je zadržati ispunjenjem njegovih želja i graditi dugoročne odnose. Svi zaposleni u firmi moraju marketinški da razmišljaju bez obzira na kom mestu rade. Najvažniji cilj je zadovoljan kupac.

Marketing u veterinarskoj praksi je novijeg datuma. Poseban doprinos razvoju marketinga veterinarske prakse dali su radovi štampani u časopisu *Veterinary Economics*, kao i mnogobrojne knjige uglavnom izdavane u SAD-u (Ackermann, 2007). U ovim radovima i knjigama obrađivane su teme od donošenja odluke o osnivanju prakse i načinu na koji je to najbolje izvesti, preko samog rada praksi i prilagođavanja promenljivom okruženju do odluke o njenom prodavanju.

U Srbiji se o marketingu u veterinarskoj praksi malo ili gotovo nimalo raspravlja u stručnoj javnosti. Nedovoljna primena marketinga u veterinarskoj praksi može biti posledica nedovoljnog znanja iz ove oblasti, kao i neophodnog ulaganja za koje u praksi veterinarske organizacije nisu spremne. Međutim, veterinarska praksa je počela da se posmatra kao i svaki drugi biznis gde kvalitet usluge i sve jača konkurenca nameću korišćenje alata marketinga u cilju sticanja konkurentske prednosti, opstanka i rasta na tržištu.

MARKETING MIKS U VETERINARSKOJ PRAKSI

Marketing miks je svakako jedan od glavnih koncepcija u marketingu, a njegovi najvažniji instrumenti su: proizvod, cena, mesto i promocija (Vasiljev, 2005). Marketing miks se često u literaturi navodi i kao strategija 4P zbog početnih slova engleskih reči koje označavaju ova četiri instrumenta: *product, price, place, promotion* (Tadić, 2011). Marketing miks predstavlja kombinaciju instrumenata koje koristi organizacija ili preduzeće radi ostvarivanja svojih ciljeva. Svaki od ovih instrumenata marketing miksa predstavlja promenljivu kojom menadžeri manipulišu, a sve radi ostvarivanja zadatih ciljeva organizacije. Veoma je bitan i sinergetski efekat koji se ostvaruje kombinovanjem ovih instrumenata na pravi način. Naravno, ova strategija se primenjuje jedino kada je ispunjen uslov da su troškovi korišćenja niži od efekata koji se ostvaruju. Kompanija ili firma nastoji da nađe kombinaciju ovih instrumenata u kojoj je razlika između efekata i troškova maksimalna.

U svojoj knjizi *Business Basic for Veterinarians* Ackerman navodi da se instrumenti marketing miksa mogu veoma uspešno primenjivati i u veterinarskoj praksi, naravno uzimajući u obzir specifičnosti koje se odnose na ovu praksu (Ackerman, 2002). Proizvod se u veterini odnosi ili na potrošne stavke,

kao što je hrana za ljubimce i lekovi, ili na usluge veterinara. Veoma je bitno da se proizvod posmatra kao vrednost isporučena klijentu i njegovom ljubimcu, a ne kao fizički entitet ili usluga. Da bi se menadžment veterinarske prakse odlučio koji proizvod ili uslugu da uvrsti u ponudu svoje prakse, veoma je bitno da postavi sebi osnovno pitanje: Koji je cilj veterinarske prakse? To mogu biti niski troškovi, zatim biti inovator i pružati visokotehnološku uslugu ili se naći između ova dva sa *client friendly* strategijom i prosečnom cenom. Kada se ovo utvrdi, menadžment prakse će veoma lako odlučiti koje proizvode i usluge treba da nudi.

Kod utvrđivanja cena osnovno je pravilo da sve kalkulacije traba vršiti počevši od cene koštanja. Postoje četiri strategije koje se koriste u veterinarskoj praksi (Ackermann, 2007):

1. Kompetitivne cene - koriste se za proizvode koji su široko dostupni i mogu se kupiti, kao što su vakcine. Bitno je da ove cene ne budu značajno drugačije nego kod konkurenčije da se ne bi izgubili klijenti.
2. Cene bazirane na vrednosti - odnose se na cene proizvoda i usluga koje su vrhunske i ekskluzivne s obzirom na stručnost veterinara koja je neophodna da bi se izvršile. Ukoliko klinika poseduje visokostručne kadrove u mogućnosti je da naplati više i ostvari ekstraprofit.
3. Cene bazirane na trošku - uglavnom su u upotrebi jer se jednostavno koriste. Na cenu koštanja se dodaje marža koja daje prodajnu cenu. Razvojem interneta klijentima su lako dostupni razni proizvodi što smanjuje prostor za prodaju veterinarskim klinikama. Stoga veterinarske klinike treba da nabavljaju isključivo proizvode za koje je klijentima neophodna profesionalna pomoć ili savet veterinara. Ovo će dovesti do svesti kod klijenata da se dobijaju bolji proizvodi uz profesionalnu uslugu nego oni koji se mogu nabaviti preko interneta. Na taj način drugi kanali distribucije ne predstavljaju više pretnju.
4. Cene bazirane na varijabilnom trošku - ova strategija je veoma efikasna u obuhvatanju svih troškova povezanih sa proizvodom ili uslugom koja se nudi. Ako je klinika u stanju da poveća obim proizvoda i usluga bez povećanja rada ili potrebnog prostora tada ovaj metod dobro funkcioniše.

Promocija predstavlja komunikaciju sa vlasnicima životinja putem personalnih i nepersonalnih tehnika o proizvodima i uslugama koje se nude i koriste, kao i o karakteristikama veterinarske prakse. Zadatak promocije je, pre svega, da podigne svest klijenta o vrednosti prakse. Odnosi sa javnošću su najvažniji oblik promocije kada se radi o veterini i to gostovanja na radiju i TV, pisanje članaka u novinama, organizovanje dana otvorenih vrata i slično. Takođe veoma je važno reklamirati praksu putem veb sajta, loga, stručne lite-

rature, žutih strana i raznih društveno korisnih programa. Iako su sve nabrojane promotivne aktivnosti veoma važne, istraživanja su pokazala da se najveći procenat klijenata opredeljuje za određenu praksu na osnovu preporuke drugih vlasnika životinja, pa se da zaključiti da je pružanje najbolje moguće usluge najbolji oblik promocije veterinarske prakse (Molhoek i Edenburg, 2009).

Mesto gde se nalazi ambulanta ili klinika je važno i to je prvi utisak klijenta o klinici (Stowe, 1999). Mesto ne igra tako važnu ulogu kao u drugim delatnostima, ali bi svakako bilo dobro da je klinika na dobrom mestu sa lakinom, brzim pristupom i velikim parking prostorom. Važno je da se klinika nalazi u čistom, svetлом prostoru bez neprijatnih mirisa jer to indirektno klijentu govori o visokom kvalitetu koji dobija za svoj novac. Klijenti procenjuju na osnovu onoga što vide u čekaonici i pretpostavljaju da je tako i u hirurškoj sali. Vrlo su efikasne jednostavne stvari kao što su stručni časopisi, slike klijenata sa ljubimcima na zidu i cveće. Takođe briga o potrebama klijenata dok čekaju na recepciji je bitna, pa je neophodno da su im na raspolaganju stvari kao što su telefon, toalet, igračke za decu, kafa na račun kuće i drugo. Sve ovo povećava percepciju vrednosti klijenta i omogućuje stvaranje dugoročnih odnosa sa njim (Silk, 2006).

MENADŽMENT ODNOSA SA KLIJENTIMA

Bez obzira na razloge za bavljenje veteranom (npr. ljubav prema životinjama) ova delatnost mora da se posmatra kao biznis. Najvažniji aspekt svakog biznisa su njegovi klijenti pa je stoga neophodno usmeriti pažnju na negovanje odnosa sa njima i zadovoljenje njihovih potreba (Međugorac, 2009). Da bi napravili praksu i kulturu orijentisanu na klijenta, potrebno je da se ceo tim zaposlenih angažuje i radi po istoj filozofiji. Ovde se ne misli samo na veterinar, već i na osoblje koje radi na prijemu pacijenata. Svaki član tima treba svakodnevno da radi na tome da oduševi klijenta izvanrednom uslugom. U interakciji sa klijentom vrlo je važna konzistentnost koja se postiže propisivanjem i primenom protokola za svako radno mesto. Takođe protokoli obezbeđuju da svako u organizaciji tačno zna šta su mu obaveze i odgovornosti. Prvi utisak klijenta je veoma bitan: 65% slike klijenta o klinici dolazi iz interakcije sa osobljem, a čak 68% klijenata napusti kliniku zbog indiferentnog stava osoblja (Ackermann, 2007). Prvi korak ka uspešnom usluživanju klijenta je upoznati ga što bolje, naučiti i zadovoljiti želje i potrebe njega i njegovog ljubimca. Ovde se postavlja pitanje – A kako upoznati klijenta? Pro, potrebno je identifikovati vrste klijenata koje uslužujemo, odnosno izvršiti segmentaciju tržišta. Klijenti u veterini su vrlo heterogeni. Jedan od načina za upoznavanje klijenata je anketiranje kako bi se utvrdilo ko su oni, koliko blizu žive, koliko zarađuju,

koje životinje imaju i drugo. Takođe je potrebno analizirati koji klijenti donose praksi najviše novca i njima posvetiti posebnu pažnju. Po Paretovom zakonu čak 80% prihoda prakse dolazi od samo 20% klijenata. Ovi klijenti ne dolaze u praksu zbog cene usluga već zbog kvaliteta i on se mora održavati. To znači da je ovim klijentima potrebno izlaziti u susret kad god je to moguće, npr. kod zakazivanja, kućnih poseta, dostavljanja hrane i lekova na kućnu adresu i slično. Ovo svakako ne znači da drugi klijenti nisu važni, već da ovakvi zaslužuju neku vrstu bonusa zbog lojalnosti. Segmentacija omogućava i specijalizaciju veterinarskih usluga za specifičnu klijentelu, naravno tamo gde se proceni da je to opravdano. Ovo se pre svega odnosi na sve veći broj ljudi koji za ljubimce imaju egzotične životinje (Ackermann, 2002).

Dr. Lowell Ackerman govori o šest "C" menadžment odnosa sa klijentom u veterinarskoj praksi (Ackerman, 2007):

1. konzistentnost (*consistency*): klijenti žele jedinstven stav o načinu lečenja, a ne različite stavove različitih doktora na klinici;
2. saosećanje (*compassion*): klijenti su vezani za životinje pa očekuju da i doktori pokažu ljubav i saosećanje sa životinjom;
3. klijent servis (*client service*): klijenti žele da budu tretirani kao važni i bitni za veterinarsku organizaciju, ili će otići, što je veoma skupo, jer višestruko je skuplje privući novog klijenta nego zadržati starog, a uz to stari klijenti su uglavnom profitabilniji od novih;
4. pogodnost (*convenience*): u savremenom društvu ljudi imaju sve manje slobodnog vremena, zbog toga je neophodno izaći u susret klijentima, što će oni znati da nagrane, a neophodno je da klijentima što više olakšamo poslovanje sa veterinarskom praksom;
5. stručnost (*competence*): klijenti ne mogu da ocene stručnost veterinara jer nemaju dovoljno znanja, te je neophodno iskoristiti svaku priliku da im nagovestite nešto po čemu bi mogli da zaključe koliko ste stručni (diplome, licence, zahvalnice);
6. trošak (*cost*): nijedan klijent ne želi da preplati uslugu, ma koliko ona profesionalna bila, jer će sigurno otići kod konkurenta. Potrebno je veoma voditi računa o vođenju cenovne politike i uzeti sve aspekte u razmatranje.

ZAKLJUČAK

Kao i u drugim oblastima poslovanja marketing u veterinarskoj praksi zauzima sve značajnije mesto u odnosu na ostale aktivnosti u organizaciji. Pre svega to je rezultat shvatanja veterinarske prakse kao biznisa, sa istim ciljevima i problemima u njihovoј realizaciji. Naime, borba za svakog klijenta u uslovima globalizacije, sve veće konkurenčije i napretka informacione tehnologije

je gde je dostupnost informacija veća nego ikad, predstavlja osnovni zadatak svake organizacije i glavni uslov njenog opstanka na tržištu. Osnovno je da veterinarske prakse shvate da je klijent njihova najvrednija imovina i razlog njihovog postojanja i da ga u skladu sa tim treba i posmatrati. Klijentovo celokupno iskustvo u komunikaciji sa veterinarskom praksom treba da bude što jednostavnije, profesionalno, ugodno i efikasno. Ukoliko ispunji ove uslove veterinarska organizacija je na sigurnom putu stvaranja uzajamno profitabilnog i dugoročnog odnosa sa svojim klijentima, pa samim tim i osiguravanju svog opstanka na tržištu.

LITERATURA

1. Ackerman J.L.: Business Basic for Veterinarians, Lincoln: ASJA, New York, 2002.
2. Ackerman J.L.: Blackwells Five Minute Veterinary Practice Management Consult, Blackwell Publishing, USA, 2007.
3. Kotler P.: Upravljanje marketingom 1. Zagreb: Informator, 1988.
4. Kotler P.: Marketing insights from A to Z: 80 Concepts every manager needs to know. New Jersey: John Wiley&Sons, 2003.
5. Kotler P.: Upravljanje marketingom. Zagreb, 2008.
6. Međugorac S.: Marketing veterinarskih usluga, Magistarski rad, Zagreb: Ekonomski fakultet, 2009.
7. Molhoek A.W.I., Edenburg N.: The effectiveness of marketing concepts in veterinary practices, *Tijdsch. voor Diergk.*, 134, 1, 4-10, 2009.
8. Moore K., Pareek N.: Marketing: the basics, Niketh Pareek, New York: Routledge 2010.
9. Pride M.W., Ferrell O.C.: Marketing, South-Western Cengage Learning, Mason, USA, 2010.
10. Silk J.A.: What is Marketing? Harvard Business School Publishing Corporation, 2006.
11. Stowe J.D.: Brand loyalty and veterinary practice marketing. *Can. Vet. J.*, 40, 816-817, 1999.
12. Tadić M.: Marketing veterinarskih usluga. *Vet. stanica*, 45, 5, 471-480, 2011.
13. Vasiljev S.: Marketing, Novi Sad: Prometej, 2005.

Primljeno: 10.07.2012.
Odobreno: 01.11.2012.

UPUTSTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RUKOPISA

ARHIV VETERINARSKE MEDICINE je časopis Naučnog instituta za veterinarstvo "Novi Sad" u Novom Sadu. Časopis objavljuje originalne, stručne i pregledne rade, priloge iz prakse, izveštaje sa kongresa i stručnih sastanaka, prikaze knjiga, rade iz istorije veterinarske medicine.

Sve primljene rukopise Uređivački odbor šalje recenzentima radi stručne procene. Ukoliko recenzenti predlože izmene i dopune, tada se kopija recenziranog rukopisa dostavlja prvom autoru s molbom da tražene izmene unesu u tekst ili pak u protivnom da argumentovano izraze svoje neslaganje sa datim primedbama recenzenta. Konačnu odluku o prihvatanju rada za štampu donosi glavni i odgovorni urednik zajedno sa uređivačkim odborom.

Časopis se štampa na srpskom jeziku, a kratak sadržaj se prevodi na engleski. Radovi stranih autora se štampaju na engleskom jeziku sa kratkim sadržajem na srpskom.

Molimo saradnike da svoje rade pišu u skladu sa sledećim uputstvima.

Opšta uputstva

Tekst rada se kuca u programu za obradu teksta Word, latinicom, fontom Times New Roman, veličina slova 12 tačaka (12 pt), dupli proredom. Levu i desnu marginu podesiti na 20 mm, a gornju i donju na 30 mm, na A4 strani. Ukoliko se u tekstu koriste specijalni znaci (simboli), koristiti font Symbol. Rukopis rada dostaviti odštampan jednostrano papiru, ali i u elektronskoj formi. Paginacija na desnoj strani lista, počevši od naslovne strane. Reference u tekstu treba da navedu ime autora, iza kojeg se stavlja zarez i godina. Ukoliko ima više od dva autora, tada se u zagradi piše samo prezime prvog autora uz dodatak «i sar.,» pa godina (Vidić i sar., 2004).

Ukoliko je rad iz programa nekog projekta na kraju rada navesti finansijera projekta i evidencijski broj.

Naslovna strana

Na prvoj stranici treba napisati sledeće:

- naziv članka, odnosno rada treba pisati velikim slovima bez podvlačenja i bez skraćenica
- imena autora pisati ispod naslova punim imenom i prezimenom, razdvojena samo zarezom.

Iznad prezimena se brojem označava ustanova u kojoj radi autor (autori):

- navesti punu adresu ustanova u kojima autori rade; navoditi onim redosledom koji odgovara redosledu autora u radu;
- na dnu stranice treba navesti ime e-mail jednog od autora, radi korespondencije.

Kratak sadržaj

Na posebnoj stranici uz rad treba priložiti i kratak sadržaj rada, obima 300 reči. Pored naslova i imena autora i ustanova, kratak sadržaj treba da sadrži najvažnije činjenice iz rada. Takođe, ispod kratkog sadržaja treba navesti 3-8 ključnih reči.

Pisanje teksta

Svi podnaslovi se pišu velikim boldiranim slovima. U radu koristiti kratke i jasne rečenice. Tekst treba da bude u duhu srpskog jezika, a sve strane izraze za koje postoje odgovarajuće reči u našem jeziku ne treba koristiti. Za nazive lekova koristiti isključivo njihova internacionalna nezaštićena imena (tj. generička imena) i pisati ih onako kako se izgovaraju (ne na latinskom ili engleskom jeziku). Ukoliko se, pak, želi ipak istaći ime nekog preparata, onda se njegovo ime (zajedno sa imenom proizvođača) stavlja u zagradu iza naziva aktivne supstancije. Uređaji ili aparati se takođe označavaju njihovim trgovачkim nazivima, s tim što se i ovde u zagradi mora navesti ime i mesto proizvođača. Za svaku skraćenicu, koja se prvi put javlja u tekstu treba navesti i pun naziv. Skraćenice nikako ne koristiti u naslovu, a u kratkom sadržaju ih takođe treba izbegavati. Decimalne brojeve pisati sa zarezom i bar još jednom nulom. Obim rukopisa bez priloga, ne treba da bude veći od 8 stranica kucanog teksta. Izbegavati veliki broj priloga.

Tabele se označavaju arapskim brojevima (iznad tabele) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Ro-

man, veličina slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se u tabeli koriste skraćenice treba ih objasniti u legendi ispod tabele.

Grafkoni se takođe označavaju arapskim brojevima (ispod grafikona) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman i veličinu slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se koriste skraćenice, treba ih objasniti u legendi ispod grafikona.

Sheme (crteži) se označavaju arapskim brojevima (ispod shema) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman i veličinu slova 10 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se koriste skraćenice, treba ih objasniti u legendi ispod sheme.

Fotografije se označavaju arapskim brojevima (ispod fotografije) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Primaju se isključivo originalne fotografije (crno-bele ili u boji) na sjajnom (glatkom, a ne mat) papiru. Na poleđini svake fotografije treba napisati redni broj i strelicom označiti gornji deo slike. Za svaki primerak rukopisa dostaviti po jednu sliku.

Poglavlja rada

Poglavlja rada su: **Uvod, Materijal i metode rada, Rezultati, Diskusija (ili Rezultati i diskusija zajedno), Zaključak i Literatura.**

U uvodu treba ukazati na najvažnije, odnosno najnovije činjenice i poglede vezane za temu rada, sa kratkim obrazloženjem cilja sopstvenih ispitivanja.

Materijal i metode rada. U ovom poglavlju treba opisati uslove pod kojima su ogledi izvedeni, navesti pun naziv metoda koje su korištene u ispitivanjima, materijal i životinje na kojima su izvedena ispitivanja.

Rezultati. Rezultate prikazati pregledno uz pomoć tabela ili grafikona. Svuda treba da stoji redni broj i tekst, koji opisuje šta određena slika, tabela, grafikon prikazuje. Redni broj sa tekstrom se stavlja iznad tabele, a kod svih ostalih prezentacija ispod.

Diskusija. U ovom poglavlju se prikazuju uporedna analiza dobijenih rezultata sa rezultatima i mišljenjima drugih autora sa isticanjem značaja ispitivanja ali bez donošenja zaključaka.

Zaključak. U ovom poglavlju autor iznosi svoja zaključna razmatranja.

Literatura. U ovom poglavlju autor treba da iznese literaturne podatke, odnosno radeve, koje je koristio u toku izrade svog rada. Poželjno je da korišćena literatura bude što novija. Reference treba pisati jednu ispod druge (numerisati ih arapskim brojevima) i abecednim redom prema prvom slovu prezimena prvog autora. Broj referenci nije u principu ograničen ali se preporučuje da ne bude veći od 15. Reference članaka koji su prihvaćeni za štampu treba označiti kao «u štampi» i priložiti dokaz o prihvatanju rada.

Primeri navođenja referenci:

1. Članak u časopisu:

Stojanović D., Maličević Ž., Ašanin R.: The use a new model for the investigation of sepsis. Acta Veterinaria, 52, 2/3, 125-131, 2002

2. Knjige i druge monografije:

Qinn P.: Clinical Veterinary Microbiology. London, Mosby, 1998

3. Poglavlje u knjizi:

Vidić B., Boboš S., Lako B., Lončarević A.: Dijagnostika bruceloze. U: Aleksandar Lončarević, Brucelozna svinja, Beograd: Poljoprivredni fakultet, 2000, str. 47-49.

4. Članak u zborniku radova sa naučno-stručnog skupa:

Valčić M., Lazić S., Rašić Z.: Mesto i uloga terenskog veterinara u epizootiološkom radu.

U: Dragiša R. Trailović, urednik, Zbornik radova, X regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, 1-5. septembar, Kragujevac, Beograd: Fakultet veterinarske medicine, 2008, 75-82.

Napomena

Rad koji ne ispunjava sve gore navedene uslove neće biti poslat na recenziju i biće vraćen autorima da ga dopune i isprave.

Adresa časopisa

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Rumenački put 20, tel. 021/ 4895392, e-mail: arhiv@niv.ns.ac.rs

NOTE FOR CONTRIBUTORS

ARHIVE OF VETERINARY MEDICINE is a journal of the Scientific Veterinary Institute “Novi Sad” in Novi Sad. The journal publishes original, expert and review papers, case reports, reports from symposia and other meetings, book reviews, cases from history of veterinary medicine.

All manuscripts are sent for a review and evaluation. In the case the reviewer suggests additional changes, the manuscript will be sent to the first author with a kind request to change the manuscript. In the case the author does not want to change, appropriate argumentation should be given. Final decision on accepting the manuscript is given by the editor in chief, together with editorial committee.

The journal is published in the Serbian language, followed by an abstract in English. The papers of foreign authors are published in English followed by an abstract in Serbian.

The manuscript should be written according to the following instructions:

General notes

The paper should be in Word program, Latin characters, size 12 pt, Times New Roman, double spaced. Left and right margins 20 mm, top and foot margins 30 mm, paper size A4. If special symbols are used, use font Symbol. The manuscript should be submitted on paper size A4, but also in electronic form. Pagination on the right side, starting from the title page. References and notes are cited in the text by authors' names, followed by the year of publication. If there are more than two authors, only the name of the first author is written followed by the abbreviation "i sar." (Vidić i sar., 2004).

If the paper is part of a project, name the financier and the project number at the end.

Title page

On the title page the following should be written:

- the title of the paper in capital letters, without underlining and abbreviations
- the names of the authors (first and second name, followed by a comma).

Above the second name place a number that denotes the institution where the author works:

- full name of the institutions should be given.
- at the bottom of the page write E-mail address of one author, for correspondence.

Summary

Every paper should be followed by a summary (300 words). Beside the title, name of the authors and institutions, it should contain the most important facts from the paper and three to eight key words.

Text

All the subtitles write in bold capital letters. Use short and concise sentences. Name the drugs as their International Nonproprietary Names (so called generic names). If the name of a specific drug is to be stressed, name it together with the producer (in brackets). The names of devices write as used in trade (name of the producer in brackets). When using an abbreviation for the first time, write the words that stand for. Abbreviations cannot be used in the title and summary. Text should not be longer than 8 pages. Avoid long enclosures.

Tables number with the Arabic numerals (above the table). Use Times New Roman, 12 pt, single space, without indentation. If abbreviations are used, give an explanation bellow the table.

Graphs number with the Arabic numerals (below the graph). Use Times New Roman, 12 pt, single space, without indentation. If abbreviations are used, give an explanation bellow the graph..

Scheme number with the Arabic numerals (below the scheme). Use Times New Roman, 10 pt, single space, without indentation. If abbreviations are used, give an explanation bellow the graph.

Photographs number with the Arabic numerals (below the photo). Only original photographs can be used (black and white). On the back side write ordinal number of the photo and mark the top of the photo.

Headings

Headings in the paper are: **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (or Results and Discussion), Conclusion and Literature.**

Introduction points on the most important, i.e. most recent data regarding the topic with a short presentation of the aims of this research.

Material and Methods. Here describe the conditions in the experiment, name the used methods, material and animals.

Results. The results are displayed through tables or graphs, numbered with ordinal numbers and with an explanation what the photo, table or graph shows.

Discussion. Here give analyses of the obtained results comparing to the results and opinions of other authors, pointing the importance of this research, without giving a conclusion.

Conclusion. Here the authors gives his final conclusions.

Literature. The author should list the references, preferably the most recent one. References should be numbered with Arabic numerals, one under the other, written in alphabetical order according to the surname of the first author. In general, the number of references is not limited, but it is advisable to write 15 references.

Examples of references:

1. Articles in journals:

Stojanović D., Maličević Ž., Ašanin R.: The use a new model for the investigation of sepsis. *Acta Veterinaria*, 52, 2/3, 125-131, 2002

2. Books:

Qinn P.: Clinical Veterinary Microbiology. London, Mosby, 1998

3. Chapters in books:

Vidić B., Boboš S., Lako B., Lončarević A.: Dijagnostika bruceloze. U: Aleksandar Lončarević, Brucelozna svinja, Beograd: Poljoprivredni fakultet, 2000, str.47-49

4. Articles in proceedings:

Valčić M., Lazić S., Rašić Z.: Mesto i uloga terenskog veterinara u epizootiološkom radu.

U: Dragiša R. Trajlović, urednik, Zbornik radova, X regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, 1-5. septembar, Kragujevac, Beograd: Fakultet veterinarske medicine, 2008, 75-82

Note

A paper that is not in accordance to the aforementioned instructions will not be sent for a review and will be returned to the authors for corrections.

Address of the journal

Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad
Rumenački put 20, tel. 021/ 4895392, e-mail: arhiv@niv.ns.ac.rs

