

UDK 619

ISSN 182-9955

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”
Novi Sad

Arhiv veterinarske medicine

Arh. vet. med.	vol. 1	br. 1	str. 1-92	Novi Sad, 2008.
----------------	--------	-------	-----------	-----------------

Arhiv veterinarske medicine

vol. 1

br. 1

str. 1-92

Novi Sad, 2008.

Maja Velhner: Infektivni burzitis pilića (Gumboro bolest)	5
Sava Lazić, Tamaš Petrović, Diana Lupulović, Dejan Bugarski, Ivan Pušić, Vladimir Polaček, Marko Maljković: Raširenost infekcije herpesvirusom 1 u malim zapaćima goveda na području Južnobaćkog i Sremskog okruga	18
Branka Vidić, Živoslav Grgić, Sara Savić-Jevđenić, Marko Maljković, Dubravka Milanov: Ispitivanje raširenosti maedi-visna u zapaćima ovaca.	32
Igor Stojanov, Dragica Stojanović, Radomir Ratajac, Plavša Nada, Miloš Kapetanov: Promene antibiotske osetljivosti <i>Escherichia coli</i> izolovane kod živine	43
Radomir Ratajac, Dragica Stojanović, Milanka Jezdimirović, Branislav Lako, Dušan Orlić, Igor Stojanov: Osetljivost <i>Salmonella</i> enteritidis na odbrane aktivne sastoćke eterićnih ulja u uslovima <i>in vitro</i>	52
Mira Kovaćević, Slavica Košarćić, Milovan Jovićin, Ivan Vujanac, Aleksandar Milovanović, Dejan Bugarski, Tomislav Barna: Aktivnost alkoholdehidrogenaze u jetri krava muzara	59
Milica Živkov-Baloš, Željko Mihaljev, Mira Kovaćević, Dejan Bugarski: Ekskrecija aflatoksina mlekom: rizik za potrošaće	66
Milovan Jovićin, Aleksandar Milovanović, Blagoje Stančić, Radoslav Došen: Uticaj aklimatizacije i životnog doba na kvalitet sperme uvoznih nerastova.	71

Arhiv veterinarske medicine
Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”
Novi Sad

Uređivački savet:

dr Branka Vidić, predsednik
dr Sava Lazić, zamenik predsednika
dr Mišo Hristovski, Makedonija
dr Alnedina Zuh, Federacija BiH
dr Nedelcho Nedelchev, Bugarska
dr Georgije Darabuš, Rumunija
dr Drago Nedić, Republika Srpska, FBiH
dr Dragan Rogan, Kanada
dr Zoran Mašić
dr Maja Velhner
dr Dušan Orlić

dr Milovan Jovičin
dr Miloš Kapetanov
dr Slavica Košarčić
dr Mira Kovačević
dr Dragica Stojanović
dr Milica Živkov-Baloš
dr Nada Plavša
dr Jelena Petrović
dr Tamaš Petrović
dr Igor Stojanov

Uređivački odbor:

Glavni i odgovorni urednik:

dr Branka Vidić, naučni savetnik

Uredništvo:

dr Sava Lazić, zamenik urednika
dr Dušan Orlić, zamenik urednika
dr Drago Nedić, Republika Srpska, FBiH
dr Dragan Rogan, Kanada
dr Maja Velhner
dr Milovan Jovičin
dr Slavica Košarčić
dr Mira Kovačević
dr Dragica Stojanović

Lektor i prevod na engleski jezik: mr Lidija Orčić

Tehnički sekretar: Vera Prokić

Časopis se objavljuje dva puta godišnje. Tiraž 150 primeraka

Adresa uredništva:

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, 21000 Novi Sad, Rumenački put 20

Tel. 381(0) 21 518-008 faks: ++381(0) 21 518-544

E-pošta: arhiv@niv.ns.ac.yu

Žiro račun: 355-1006444-18 Vojvođanska banka, Novi Sad

matični broj: 08608857, PIB 100236555

Infektivni burzitis pilića (Gumboro bolest)

Maja Velhner^{*}

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

Infektivni burzitis (IBDV) je oboljenje rasprostranjeno u mnogim zemljama sa industrijskim živinarstvom. Uzročnik je RNA virus svrstan u familiju Birnaviridae. Postoje dva serotipa IBD virusa (IBDV). Serotip 1 virusi su poreklom od pilića, a serotip 2 virusi su izolovani iz ćuraka. Virusi serotip 1 grupe se dalje mogu podeliti na klasične, varijantne i vrlo virulentne sojeve. Sve mlade kategorije pilića su prijemčive na infekciju. Obbolele ptice su, zahvaljujući imunosupresiji, osetljive na sekundarne bakterijske infekcije što izaziva dodatne ekonomske štete. Virus se umnožava u burzi Fabricius, gde uzrokuje depleciju limfocita (svi sojevi) i inflamatorni proces (klasični i vrlo virulentni sojevi). Četiri dana od infekcije burze atrofiraju posle čega sledi regeneracija tkiva. Oštećenja se patohistološkim pregledom mogu ustanoviti i na slezini, timusu i koštanoj srži a intenzitet promena na ovim organima zavisi od soja virusa kojim su ptice inficirane. Inflamatorni proces u burzi prati influks CD3+ limfocita koji imaju ulogu u eliminaciji virusa u tkivu kao i u procesu regeneracije organa. Oboljenje se može staviti pod kontrolu putem vakcinacije. Roditeljska jata se zato vakcinišu inaktivisanim vakcinama što obezbeđuje prenošenje nasleđenih antitela na potomstvo. Mladi pilići su na ovaj način zaštićeni u prvim danima života, a žive vakcine treba da obezbede imunitet kasnije u toku odgoja. Žive vakcine se dele na blage, intermedijerne i vruće. Jače vakcine lakše mogu da savladaju inhibitorni efekat nasleđenih antitela i preporučuju se u nepovoljnoj epizootiološkoj situaciji. Ove vakcine mogu uzrokovati oštećenja na burzama što je praćeno brзом regeneracijom tkiva. Poznavanje antigene strukture virusa je omogućilo da se genetičkim inženjeringom dizajniraju vakcine koji će najverovatnije naći primenu u industrijskom živinarstvu u budućnosti.

Ključne reči: pilići, infektivna oboljenja burze, patologija, vakcine, imunološki odgovor

* e-mail: maja@niv.ns.ac.yu

Infectious bursal disease (Gumboro disease)

Maja Velhner*

Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

Infectious bursal disease (IBD) is widespread in many countries with intensive poultry industry. The causative agent is an RNA virus that belongs to *Birnaviridae* family. Two serotypes of IBDV exist. Serotype 1 strains originate from chickens, while serotypes 2 viruses are isolated from turkeys. Serotype 1 strains are further divided as classical, variant and very virulent. All the categories of young chickens are prone to the disease. Due to resultant immunosuppression the birds are exposed to secondary bacterial and viral infection that causes additional economic losses. The virus multiplies in the bursa of Fabricius inducing lymphocyte depletion (all strains) and inflammation (classical and very virulent strains). Approximately four days post infection, atrophy of bursa occurs followed by recovery process. Spleen, thymus and bone marrow are also damaged and the intensity of damage depends on the virus involved. Damages of these organs could be detected by pathohistological examination. The inflammatory response in bursa coincides with strong influx of CD3+ cells that take part in virus clearance and recovery. The disease can be controlled by the application of vaccination. Parent flocks are vaccinated with oil emulsion vaccines providing transfer of maternally derived antibodies to the progeny. In this way chickens are protected at an early age, while live vaccines provide protection during rearing. Live vaccines are classified as mild, intermediate and “hot”. Stronger vaccines can overcome high levels of maternal antibodies more efficiently and are recommended in questionable field situation. Such vaccines may cause destruction of the bursa followed by a quick and full recovery. The knowledge about the antigenic structure of the virus leads to the production of genetically engineered vaccines that could be used in the future.

Key words: chicken, infective bursal diseases, bursa, pathology, vaccine, immunology response

UVOD

Prvu pojavu infektivnog burzitisa u jatima brojlera pilića u mestu Gumboro, država Delaware, USA opisao je Cosgrove 1962. godine. Promene na parenhimatозnim organima su uočene na bubrezima i burzi Fabricius te je oboljenje nazvano

nefritis nephrosis sindrom. Za kratko se bolest pojavila i u drugim delovima sveta i od tada do danas je neprekidno prisutna u industrijskom živinarstvu kao i u ekstenzivnom načinu uzgoja pilića. Infektivni burzitis uzrokuje virus koji se teško eliminiše iz kontaminisanih farmi. Zahvaljujući tome strogi režim sanitacije objekata i pažljivo planiran program imunoprofilakse su i danas jedine efikasne mere kontrole ove bolesti.

Zbog imunosupresivnog efekta virusa, inficirani pilići su skloni sekundarnim bakterijskim infekcijama što ima negativan uticaj na proizvodne rezultate. U inficiranim jatima takođe je primećen slab imunološki odgovor na vakcinaciju protiv Newcastle oboljenja. Na IBDV su prijemčive sve kategorije mladih pilića. U vreme prvih pojava oboljenja morbiditet u jatima lakih hibrida mogao je dostići i 90% a mortalitet je iznosio 20%, dok je u brojerskim jatima morbiditet bio 50% a mortalitet oko 3% (Lasher i Shane, 1994). Vrlo brzo su se na tržištu pojavile vakcine od atenuisanih sojeva virusa i smatralo se da će ovaj zdravstveni problem biti rešen primenom mera imunoprofilakse. Umesto toga virus je evoluirao u dve nove patogene forme. U USA su dokazani varijantni sojevi na farmama a u Evropi i Aziji pojavili su se vrlo virulentni virusi (Chettle i sar., 1989; Van den Berg i Muelemans, 1991a; Nunoya i sar., 1992; Gagić i sar., 1993). Vakcine sačinjene od klasičnih serotipova nisu u potpunosti štatile piliće od varijantnih sojeva (Giambrone i Closser, 1990) i takođe nisu mogle obezbediti potpunu zaštitu od vrlo virulentnih virusa (van den Berg i sar., 1991b). Varijantni sojevi uzrokuju asimptomatski burzitis praćen vrlo jakim imunsupresijom, dok vrlo virulentni virusi izazivaju vrlo visok mortalitet.

Postoje dva serotipa virusa IBD. U serotip 1 grupu spadaju virusi koji su izolovani na pilićima a u serotip 2 grupu spadaju virusi izolovani na ćuricama. Virus iz serotipske grupe 2 nisu patogeni za piliće (Ismail i sar., 1988) i ne mogu obezbediti zaštitu od IBDV koji pripada serotipu 1 (Jackwood i sar., 1985). U serotip 1 grupu spadaju klasični, varijanti i vrlo virulentni virusi.

VIRUS

IBD virus je svrstan u familiju Birnaviridae genus *Birnavirus* (Dobos i sar., 1979). Virus je bez omotača a kapsid je icosahedralne simetrije. Genom čini dvostruki bisegmentirani lanac RNK. Veći segment A kodira poliprotein 110 kDa koji se autoproteolitički deli formirajući virusne proteine VP2, VP3 i VP4 (Hudson i sar., 1986). Poliprotein preklapa još jedan manji okvir za čitanje (Spies i sar., 1989) koji kodira gen za sintezu VP5 (Mundt i sar., 1995). Mutant bez VP5 konstruisan primenom reverzne genetike ne uzrokuje patološke lezije na burzi inficiranih pilića, izoluje se iz burze i indukuje humoralni imunološki odgovor (Yao i sar., 1998). Segment B kodira VP1 od 97 kDa koji ima funkciju virusne polimeraze (Kibenge i sar., 1988) i enzimsku *capping* aktivnost (Spies i Müller, 1990). VP2 je glavni strukturni protein virusa. Na ovom proteinu su između amino kiselina 206 i 350 ustanovljeni konformacioni antigeni epitopi (Azad i sar., 1987). Veći deo amino kiselinskih varijacija unutar sojeva IBDV je ustanovljen između dva hidrofilna regiona na

pozicijama 212 do 224 i od 314 do 324 (Bayliss i sar., 1990). Drugi strukurni protein je označen VP3, dok VP4 ima aktivnost virusne proteaze. Na 5'3' kodirajućem kraju segmenta A i B se nalazi region koji ima ulogu u replikaciji virusa i virulenciji. Mundt i Muller (1995) su opisali na 5' kraju sekvencu za vezivanje 18S RNA a u oba segmenta su nađene strukture petlje (*hairpin loop*) takođe odgovorne za replikaciju i virulenciju virusa.

ULOGA MUTACIJA U HIPERVARIJABILNOM REGIONU NA PATOGENI POTENCIJAL VIRUSA

Značaj nekih amino kiselina u ispoljavanju virulencije virusa i/ili atenuacije je utvrđen ili primenom metode višestrukih pasaža virusa preko embrioniranih jaja ili ćelijske kulture ili metodom reverzne genetike. Virulentni virusi IBD ne uzgajaju se lako na ćelijskoj kulturi embrionalnih fibroblasta i adaptacija virusa na kulturu tkiva obično vodi do atenuiranja virusa (Yamaguci i sar., 1996; Wang i sar., 2003). Ovim laboratorijskim postupkom je ustanovljeno da su amino kiselinske promene aspartatne kiseline u asparagin na poziciji 279 i alanina u treonin na poziciji 284 odgovorni za uspostavljanje ćelijskog tropizma. Metodom reverzne genetike Mundt (1999) je ustanovio da je jedna jedina mutacija, i to alanina u treonin na poziciji 284, dovoljna za adaptiranje virusa na kulturu tkiva kao i za atenuaciju. Van Loon i sar. (2002) su metodom reverzne genetike izazvali dve tačkaste mutacije na VP2 i dobili od patogenog atenuirani virus koji je mogao da se uzgaja na pilećim fibroblastima. Autori su zaključili da su dve mutacije na poziciji 284 (alanin u treonin) i na poziciji 253 (glutamin u histidin) ključne za atenuaciju. Analiza virusne sekvence hipervarijabilnog regiona VP2 i sekvence VP1 je omogućila filogenetska istraživanja IBDV na osnovu koje je dodatno ustanovljeno da se ovi virusi mogu klasifikovati u dve serološke grupe (1 i 2), da se unutar serološke grupe nalaze klasični, varijantni i vrlo virulentni sojevi (Yamaguchi i sar., 1997), kao i da IBDV izolovani u Australiji iako genetski srodni IBD virusima u USA ipak pripadaju posebnoj grupi (Sapats i Ignjatović, 2000).

INKUBACIJA, KLINIČKI SIMPTOMI OBOLJENJA I PATOLOŠKE PROMENE

Za sve viruse unutar serološke grupe 1, inkubacija je kratka i traje 2 do 3 dana. Ciljni organ za replikaciju virusa je burza Fabricius gde se prve lezije histološkim pregledom mogu naći već posle 24 sata od infekcije. Obolele ptice su depresivne, nakostrešenog perja, anoreksične, imaju vodenast proliv bele boje, podrhtavaju i na kraju uginjavaju. Visina mortaliteta se razlikuje za viruse koji pripadaju klasičnim i vrlo virulentnim sojevima. Infekcija SPF pilića (*specific pathogen free* – slobodnih od specifičnih patogenih uzročnika) klasičnim sojevima uzrokuje mortalitet oko 20% dok posle infekcije visoko virulentnim virusima uginjava 100% eksperimentalno inficiranih pilića. Klasični i vrlo virulentni virusi izazivaju iste patološke promene. Na muskulaturi bataka i belog mesa mogu se videti krvarenja, bubrezi su povećani i

bledi, a tubuli su puni urata. Burza Fabricius je povećana, u želatinoznom edemu a na plikama se vide sitna krvarenja. Posle početnog uvećanja burze nastaje atrofija reverzibilnog karaktera. Prema istraživanjima Winterfielda i sar. (1972) burza nikada ne dostiže fiziološku veličinu posle infekcije patogenim virusima.

HISTOLOŠKE LEZIJE

Karakteristične histološke lezije se nalaze na burzi inficiranih pilića. Klasični i vrlo virulentni sojevi izazivaju inflamatorni proces koji uzrokuje depleciju limfocita, influks makrofaga i heterofila, edem vezivnog tkiva i obično se u burzama mogu naći veće ili manje ciste. Posle par dana započinje proces repopulacije folikula burze limfocitima i ova regeneracija može trajati čak i više nedelja (Kim i sar., 1999). Varijantni virusi uzrokuju nekrozu limfocita i izraženu atrofiju organa bez pratećeg karakterističnog inflamatornog procesa. Nekroza limfocita se odvija i u slezini. I ovaj organ je u početku patološkog procesa uvećan zahvaljujući periarteriolarnoj hiperplaziji retikularnih ćelija. Tri dana posle infekcije nekroza limfocita se može ustanoviti i u timusu, iako se virus ne replikuje u ovom organu (Sharma i sar., 1989). Tanimura i sar. (1995) su istraživali patološke promene na SPF pilićima posle infekcije klasičnim i vrlo virulentnim virusima IBD. Histološke promene na burzama su bile iste kod svih virusa dok je intenzitet lezija bio značajniji kod vrlo virulentnih virusa u cekalnim tonzilama, timusu, slezini i koštanoj srži. Nekroza limfocita u cekalnim tonzilama i značajna redukcija limfocita u slezini dokazana je posle infekcije vrlo virulentnim virusima. Klasični sojevi nisu prouzrokovali promene na koštanoj srži dok su vrlo virulentni virusi uzrokovali redukciju hematopoetičnih ćelija i povećan broj makrofaga u ekstrasinusoidalnim prostorima. U sličnom istraživanju u kojem su SPF pilići bili inficirani atenuisanim, klasičnim i vrlo virulentnim virusom IBD, takođe je ustanovljeno da se virus umnožavao značajno više u slezini i koštanoj srži u poređenju sa klasičnim sojevima (Tsukamoto i sar., 1995). Replikacija virusa u neburzalnom tkivu se može smatrati jednim od dijagnostičkih parametara prilikom analize patogenosti sojeva IBDV, odnosno njihovog virulentnog potencijala (Tanimura i sar., 1995). Mi smo upoređivali histološke lezije i primarni serološki odgovor posle infekcije IBD virusom komercijalnih pilića sa različitim nivoom nasleđenih antitela. Uočeno je da visoki nivo antitela može da prevenira replikaciju virusa u burzi dok niži nivo nasleđenih antitela ne sprečava replikaciju divljeg patogenog virusa kod brojerskih roditelja i tovnih pilića. U ovom eksperimentu je takođe zapaženo da je kod tri od pet pilića sa visokim nivoom antitela ipak došlo do značajnih oštećenja burze što nije bilo praćeno pojavom precipitinskih antitela sedam dana posle infekcije. Primarni imunološki odgovor je u ovom istraživanju bio u korelaciji sa nivoom nasleđenih antitela a ne u korelaciji sa oštećenjima na burzi (Velhner i sar., 2001).

IMUNOCITOHEMIJSKA ISTRAŽIVANJA

U burzi se mogu naći na virus pozitivne ćelije u korteksu i meduli 6 do 12 sati posle infekcije. Makrofagi su pozitivni od drugog do desetog dana dok su u burzi prisutne pozitivne ćelije 13. dana. Broj pozitivnih ćelija u slezini i koštanoj srži je veći posle infekcije vrlo virulentnim virusima u odnosu na klasične sojeve (Tanimura i sar., 1995). Dve nezavisne istraživačke grupe su ustanovile da infekciju sa klasičnim sojem virusa IBD prati vrlo jak inluks T limfocita u burzama inficiranih pilića (Tanimura i Sharma, 1997; Vervelde i Davison, 1997). Kod kontrolnih neinficiranih pilića može se naći nekoliko CD3 pozitivnih ćelija između korteksa i medule. U istraživanjima koja su objavili Tanimura i Sharma (1997) CD8 fenotip dominira u akutnoj fazi oboljenja dok je u drugom istraživanju (Williams i Davison, 2005) u akutnoj fazi oboljenja dokazan porast CD4 limfocita a broj CD8 bio je veći od 6. dana posle infekcije (PI) i ostaje visok 14 dana PI. U cecalnim tonzilama je ustanovljen CD3 ćelijski fenotip u blizini na virus pozitivnih ćelija a CD8 pozitivne ćelije su bile brojnije od CD4 u ovom organu. U našim eksperimentima su CD3 pozitivne ćelije u velikom broju dokazane u burzama pilića inficiranih sa vrlo virulentnim virusom IBDV 4 dana PI. Desetog dana PI nađeni su malobrojni limfociti pozitivni na virus (Aleksić-Kovačević i sar., 1997. i 2000).

T ĆELIJE U IMUNOLOŠKOM ODGOVORU I PATOLOŠKOM PROCESU POSLE INFEKCIJE SA IBDV

Otkriće T limfocita u burzi i u drugim organima u kojima se replikuje IBDV su pokrenula istraživanja o ulozi ovih ćelija u imunološkom odgovoru kao i u nastajanju patološkog procesa. Sedam dana posle infekcije virusom IBD, broj T limfocita u burzi je najveći. Ove ćelije su aktivirane što je ustanovljeno na osnovu ekspresije Ia i CD25 markera. Posle infekcije klasičnim i vrlo virulentnim virusima IBD, u burzama pilića nastaje inflamatorni proces i u takvim okolnostima je ustanovljeno da je ekspresija interferona g (IFNg) najviša drugog dana od infekcije. U burzi i slezini je takođe ustanovljena povećana ekspresija interleukina 6 (IL6) što se smatra dokazom da T limfociti igraju važnu ulogu u eliminisanju virusa iz ovog organa u akutnoj fazi infekcije (Kim i sar., 2000). U drugom eksperimentu koji su objavili (Yeh i sar., 2002) jednodnevni SPF pilići su tretirani ciklofosamidom što je uzrokovalo kompromitovanje humoralnog imunološkog odgovora. Četrnaest dana posle infekcije IBD virus više nije mogao biti ustanovljen u parenhimatoznim organima što govori u prilog tome da su T limfociti uklonili virus sa ciljnih mesta. Proliferacija ćelija slezine na nespecifične stimulatore poput Konkavalina A je kasnila 3 dana kod ciklofosamidom tretiranih pilića u poređenju sa kontrolom. I pored suprimirane humoralne komponente pilići su bili zaštićeni od naknadne infekcije što zajedno sa gore navedenim rezultatima govori da je ćelijski imunološki odgovor dovoljan da zaštiti piliće od IBD.

PREVENTIVA

Lasher i Shane (1994) su u revijalnom radu prikazali prevenciju IBD aplikacijom atenuisanih i inaktivisanih vakcina. Praksa vakcinacije brojerskih roditelja ili roditelja lakih linijskih hibrida uljanim vakcinama na kraju odgoja počela je osamdesetih godina. Ovakav način vakcinacije je obezbedio prenošenje visokog nivoa maternalnih antitela na potomstvo (Wyeth i Cullen, 1978; Wyeth, 1980) što je prouzrokovalo teškoće kod vakcinacije pilića-potomaka. Naime, blagi vakcinalni virusi nisu mogli da se replikuju u prisustvu nasleđenih antitela i ukazala se potreba za „jačim” intermedijarnim vakcinalnim sojevima. Početkom devedesetih, kada su Evropom i Azijom zavladaali vrlo virulentni virusi, ispostavilo se da ni intermedijarni sojevi nisu dovoljno efikasni, odnosno da ne mogu dovoljno brzo da zaštite piliće u prisustvu maternalnih antitela (van den Berg i sar., 1991b; Gagić i sar., 1994). Takozvane „vruće” vakcine bile su efikasnije u praksi ali ovakav način vakcinacije nije široko prihvaćen iako se još uvek koristi u zemljama trećeg sveta. U područjima sa razvijenim industrijskim živinarstvom gde farme imaju zadovoljavajuće zoohigijenske uslove nije potrebno koristiti „vruće sojeve”. Atenuisane vakcine protiv ovog oboljenja se prema tome mogu podeliti na blage (*mild*), srednje jačine (*intermediate*) i takozvane vruće (*hot*) vakcine.

Načini i metode vakcinacije protiv IBD su predmet intenzivnih savremenih istraživanja. Zbog toga što vakcinacija zahteva manipulaciju sa životinjama kao i zbog troškova skladištenja, transporta i aplikacije u veterinarskoj medicini postoji potreba za viševalentnim vakcinama. Viševalentne vakcine mogu da se dobiju kombinacijom više živih ili inaktivisanih virusa tako da se i virus IBD često koristi kao komponenta u takvim preparatima (Chang i sar., 1985; Biđin i sar., 1998). Tehnološki napredak i uvođenje automatizacije u proizvodnji poput vakcinacije *in ovo* takođe spada u savremene trendove imunoprofilakse u živinarstvu (Ricks i sar., 1999; Sharma, 1999; Gagić, 1999; Negash i sar., 2004). Intermedijarni soj IBDV (Bursine 2, Forth Dog) upotrebljen je kao jedan od antigena u viševalentnoj vakcini koja je testirana posle *in ovo* aplikacije na SPF pilićima (Gagić i sar., 1999; Sharma i sar., 2002). Takođe je moguća aplikacija živih virusa u kombinaciji sa antitelima (Haddad i sar., 1997; Jeurissen i sar., 1998; Ivan i sar., 2005).

Iako je vrlo mali broj vakcina protiv IBD dobijenih genetskim inženjerstvom dostupan komercijalno, istraživači neprekidno pokušavaju da naprave bezbedne i efikasne vakcine koristeći saznanja o antigenim karakteristikama ovog virusa i mehanizmima imunološkog odgovora koji ovi virusi indukuju. Osnovna obeležja genetskim inženjerstvom dobijenih vakcina su opisana (Velhner i sar., 2002). U načelu se smatra da su genetski modifikovane vakcine bezbednije od atenuisanih vakcina. Rekombinantna tehnologija je upotrebljena u razvoju živih viševalentnih vakcina koje su usmerene na IBD (Tsukamoto i sar., 2002) a opisana je i kombinovana vakcina napravljena od VP2, VP3 i VP4 antigena virusa eksprimiranih u plazmidu i interleukina 6 (IL6) takođe eksprimiranog u plazmidu koji su aplikovani intramuskularno. IL6 je u ovim eksperimentima doprineo poboljšanju imunološkog

odgovora. Ovako konstruisana vakcina štitila je posle trokratne aplikacije piliće od infekcije sa IBDV bolje od plazmida koji je eksprimirao samo VP2 sa ili bez IL6 (Sun i sar., 2005).

Metoda reverzne genetike omogućava da se na nivou genomske DNK izazovu usmerene mutacije, a potom se transkribovana RNK uzgaja u eukariotskim ćelijama. Mundt i sar. (1999) su konstruisali himerični virus od segmenta A i B soja D78 u koji je ugrađen fragment od 1078 bp varijabilnog regiona VP2 i delimična sekvenca VP4 varijantnog virusa E-Del, USA. Usmerenom mutagenezom dodatno su izmenjeni kodoni 253 (Q u H), 254 (S u G) i 284 (A u T) na hipervarijabilnom delu A segmenta (Mundt i sar., 2003). Himerični virus se mogao uzgajati na kulturi tkiva poput D78 virusa i mogao se umnožavati u prisustvu maternalnih antitela titra 6 log₂. Autori su pokazali da ovako konstruisan virus komparabilan D78 virusu i pretpostavili da ovako dizajnirana vakcina može obezbediti simultanu zaštitu pilića od klasičnih i varijantnih patogenih virusa.

ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

Savremena istraživanja obezbedila su veliki broj informacija o karakteristikama infekcije virusom IBD. Dobra praksa uzgoja životinja, sanitacija objekata i pravilan izbor vakcina su i dalje najefikasnije mere zaštite pilića od ovog oboljenja. Iskustva u našoj zemlji pokazala su da je važno utvrditi nivo nasleđenih antitela kako bi se odredilo adekvatno vreme za vakcinaciju i da epizootički podaci o prethodnim pojavama oboljenja na farmama ili u okolini objekata za uzgoj živine opredeljuju sa kojim sojem treba da se izvrši vakcinacija (Glavičić, 1988; Orlić, 2000; Orlić i Tibru, 2002; Orlić i sar., 2002). Pravilna sanitacija objekata takođe je od velikog značaja. Često se oboljenje pojavljuje u seoskim gazdinstvima. Zato je neophodna vakcinacija i ove kategorije živine što bi u perspektivi smanjilo štete koje IBDV prouzrokuje na našim farmama. Da bi se postigao ovaj cilj potrebno je puno rada i zalaganja celokupne veterinarske službe. Imajući u vidu da su skoro svi specijalistički i naučni instituti u našoj zemlji opremljeni za sprovođenje savremenog serološkog monitoringa poput ELISE (enzimski imunološki test), da javne i privatne veterinarske službe takođe izvršavaju poslove u oblasti živinarstva, naša je obaveza da ne zanemarimo problem IBD, nego da zajedničkim zalaganjima pokušamo da smanjimo pojave oboljenja. Specijalističke službe bi trebale, kada god se za to ukaže potreba, da dostavljaju materijal za izolaciju i/ili determinaciju virusa IBD, onim laboratorijama u zemlji koje imaju adekvatnu opremu za potrebna ispitivanja. Pojava asimptomatskog infektivnog burzitisa u nekim evropskim zemljama (Jackwood i sar., 2006) i molekularna istraživanja jednog virusa iz Belgije (Letzel i sar., 2007) ukazuju na mogućnost da su se varijantni sojevi nedavno pojavili i u Evropi. Iz toga razloga su neophodna istraživanja iz ove oblasti i u našoj zemlji kako bi stekli saznanja o tome koji sojevi su prisutni u Srbiji i shodno tome kako na najefikasniji način sprovesti imunoprofilaksu.

LITERATURA

1. Aleksić-Kovačević S., Milosavljević P., Jovanović M., Gagić M., Knežević M.: Prednost patohistoloških i imunocitohemijskih metoda u dijagnostici važnijih oboljenja živine. *Nauka u živinarstvu*, 3-4, 2:155-160, 1997.
2. Aleksić-Kovačević S., Velhner M., Knežević M.: Expression of infectious bursal disease virus antigen in bursae of experimentally infected chickens. Proceedings and Programe, 18th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology, Amsterdam, pp 221, 2000.
3. Azad A.A., Jagadish M.N., Brown M.A., Hudson P.J.: Deletion mapping and expression in *Escherichia coli* of the large genomic segment of a birnavirus. *Virology*, 161:145-152, 1987.
4. Bayliss C.D., Spies U., Shaw K., Peters R.W., Papageorgiou A., Müller H., Boursnell M.E.G.: A comparison of the sequences of a segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2. *Journal of General Virology* 71:1303-1312, 1990.
5. Biđin Z., Čajavec S., Sladić D., Ergotić N., Cizelj A., Pokrić B.: Protection of broiler breeders by an inactivated combined water-in-oil-in-water viral vaccine. *Acta. Vet. Hung.* 46:25-34, 1998.
6. Chang J.D., Eidson C.S., Kleven S.H.: Simultaneous application of live turkey herpesvirus and infectious bursal disease vaccines against Marek's disease and infectious bursal disease. *Poultry Sci.* 64:78-83, 1985.
7. Chettle N., Stuart J.C., Wyeth P.J.: Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. *Vet. Rec.* 125:271-2, 1989.
8. Cosgrove A.S.: An apparently new disease of chickens-avian nephrosis. *Avian Dis.* 6:385-389, 1962.
9. Dobos P., Hill B.J., Hallett R., Kells D.T.C., Becht H., Teninges D.: Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. *J. Virol* 32:593-605, 1979.
10. Gagić M., Velhner M., Đekić J., Orlić D.: Novija saznanja o virusu Gamboro bolesti kod nas i u svetu. *Živinarstvo* 4-6:35-37, 1993.
11. Gagić M., Orlić D., Đekić J., Palić T.: Prilagođavanje programa imunoprofilakse za virus Gamboro bolesti u uslovima njegove povećane patogenosti. *Veterinarski glasnik* 48:517-523, 1994.
12. Gagić M.: *In ovo* vakcinacija viševalentnim vakcinama. *Živinarstvo* 8-9, 34:9-11, 1999.
13. Gagić M., St Hill C.A., Sharma J.M.: *In ovo* vaccination of specific pathogen free chickens with vaccines containing multiple agents. *Avian Dis.* 43:293-301, 1999.
14. Glavičić M., Velhner M., Gagić M., Veselinović S.: Comparative examination of the effects of immunoprotection of broiler chickens by different vaccines made on attenuated strains of infectious bursal disease virus. *Proceedings*, 7. Simpozijum Drobiaskie Polanica Zdroj, p 32, 22-24, 09, 1988.

15. Giambrone J.J., Closser J.: Efficacy of live vaccines against serologic subtypes of Infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 34:7-11, 1990.
16. Haddad E.E., Whitfill C.E., Avakian A.P., Ricks C.A., Andrews P.D., Thoma J.A., Wakenell P.S.: Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis.* 41:882-9, 1997.
17. Hudson P.J., McKern M.N., Barbara E. P., Azad A.A.: Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus. *Nucleic Acids Research* 14:5001-5012, 1986.
18. Ismail N.M., Saif Y. M., Moorhead P.D.: Lack of pathogenicity of five serotype 2 Infectious bursal disease viruses in chickens. *Avian Dis.* 32:757-759, 1988.
19. Ivan J., Velhner M., Ursu K., German P., Mato T., Dren C.N., Meszaros J.: Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Can. J. Vet. Res.* 69:135-42, 2005.
20. Jackwood D.J., Saif Y.M., Moorhead P.D.: Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens. *Avian Dis.* 29: 1184-1194, 1985.
21. Jackwood D.J., Cookson K.C., Sommer-Wagner S.E., Le Galludec H., de Wit J.J.: Molecular characteristics of infectious bursal disease viruses from asymptomatic broiler flocks in Europe. *Avian Dis.* 50:532-536, 2006.
22. Jeurissen S.H., Janse E.M., Lehrbach P.R., Haddad E.E., Avakian A., Whitfill C.E.: The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology* 95:494-500, 1998.
23. Kibenge E.S.B., Dhilon A.S., Russell R.G.: Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *J. Gen. Viro.* 69:1757-1775.
24. Kim In-Jeong, Gagić M., Sharma J.M.: Recovery of antibody producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.* 43:401-413, 1999.
25. Kim I.J., You S.K., Kim H., Yeh H.J., Sharma J.M.: Characterization of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *J. Virol.* 74:8884-8892, 2000.
26. Lasher H.N., Shane S.M.: Infectious bursal disease. *Worlds Poultry Science Journal* 50:133-166, 1994.
27. Letzel T., Fasseli C., Felix Rey A., Delmas B., Jagt E., van Loon A.M.W. Adriaan, Mundt E.: Molecular and structural bases for the antigenicity of VP2 of infectious bursal disease virus. *Journal of Virol.* 81:12827-12835, 2007.
28. Mundt E., Beyer J., Müller H.: Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. *J. Gen. Virol.* 76: 437-443, 1995.
29. Mundt E., Müller H.: Complete nucleotide sequence of 5'- and 3' noncoding regions of both genome segments of different strains of infectious bursal disease virus. *Virology* 209:10-18, 1995.

30. Mundt E.: Tissue culture infectivity of different strains of infectious bursal disease virus is determined by distinct amino acids in VP2. *J. Gen. Virol.* 80:2067-2076, 1999.
31. Mundt E., de Haaas N., van Loon A.W.M. Adriaan: Development of a vaccine for immunization against classical as well as variant strains of infectious bursal disease virus using reverse genetics. *Vaccine* 21:4616-4624, 2003.
32. Negash T., Al-Garib S. O., Gruys E.: Comparison of in ovo and post hatch vaccination with particular reference to infectious bursal disease. A review. *Vet. Q.* 26(2):76-87, 2004.
33. Nunoya T., Otaki Y., Tajima M., Hiraga M., Saito T.: Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis.* 36:597-609, 1992.
34. Orlić D.: Kontrola jako virulentnog virusa Gamboro bolesti primenom intermedijarnih vrućih vakcina u Jugoslaviji. Zbornik radova, "Unapređenje zdravstvene zaštite životinja I proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla i hrane za životinje", Novi Sad: Naučni institute za veterinarstvo "Novi Sad", str. 53-57, 2000.
35. Orlić D., Tibru I.: Gumboro bolest, epizootiologija i mere kontrole u farmskom gajenju živine, *Savremena poljoprivreda*, 51:297-300, 2002.
36. Orlić D., Kapetanov M., Suvajdžić Lj.: Epizooties of highly virulent virus of Gumboro disease in Vojvodina. *Lucrari Stiintifice medicina veterinara*, vol XXXV, p. 273-275, 2002.
37. Ricks CA, Avakian A, Bryan T., Gildersleeve R., Haddad E., Ilich R., King S., Murray L., Phelps P., Poston R., Whitfill C., Williams C.: In ovo vaccination technology. *Adv. Vet. Med.* 41:495-515, 1999.
38. Sapats S.I., Ignjatović J.: Antigenic and sequence heterogeneity of infectious bursal disease virus strains isolated in Australia. *Archives of Virology*, 145:773-785, 2000.
39. Sharma J.M., Dohms J. E., Metz A.L.: Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific pathogen free chickens. *Avian Dis.* 33:112-124, 1989.
40. Sharma J.M.: Introduction to poultry vaccines and immunity. *Adv. Vet. Med.* 41:481-94, 1999.
41. Sharma J.M., Zhang Y., Jensen D., Rautenschlein S., Yah H.Y.: Field trial in commercial broilers with a multivalent in ovo vaccine comprising a mixture of live viral vaccines against Marek's disease, infectious bursal disease, Newcastle, and fowl pox. *Avian Dis.* 46:613-22, 2002.
42. Sun J.H., Yan Y.X., Jiang J., Lu P.: DNA Immunization against very virulent Infectious bursal disease virus with VP2-4-3 gene and chicken IL-6 gene. *J. Vet. Med.* 52:1-7, 2005.

43. Spies U., Müller H., Becht H.: nucleotide sequence of infectious bursal disease virus genome segment A delineates two major open reading frames. *Nucleic Acids Research* 17 (19), 1989.
44. Spies U., Müller H.: Demonstration of enzyme activities required for cap structure formation in infectious bursal disease virus, a member of the birnavirus group. *J. Gen. Virol.* 71:977-981, 1990.
45. Tanimura Nobuhiko, Kenji Tsukamoto, Kikuyasu Nakamura, Minoru Narita, Minoru Maeda: Association between pathogenicity of infectious bursal disease virus and viral antigen distribution detected by immunohistochemistry. *Avian Dis.* 39:9-20, 1995.
46. Tanimura N., Sharma J.M.: Appearance of T cells in the bursa of Fabricius and cecal tonsils during the acute phase of infectious bursal disease virus infection in chickens. *Avian Dis.* 41:638-645, 1997.
47. Tsukamoto K., Tanimura N., Mase M., Kunitoshi Imai: Comparison of virus replication efficiency in lymphoid tissue among three infectious bursal disease virus strains. *Avian Dis.* 39:844-852, 1995.
48. Tsukamoto K., Saito S., Saeki S., Sato T., Tanimura N., Isobe T., Mase M., Imada T., Yuasa N., Yamaguchi S.: Complete long lasting protection against lethal infectious bursal disease virus challenge by a single vaccination with an avian herpesvirus vector expressing VP2 antigens. *Journal of Virol.* 76:5637-5645, 2002.
49. Yamaguchi Tsuyoshi, Motohiko Ogawa, Yasuo Inoshima, Miyoshi Masahiro, Fukush Hideto, Hirai Katsuya: Identification of sequence changes responsible for attenuation of highly virulent infectious bursal disease virus. *Virology* 223:219-223, 1996.
50. Yamaguchi T., Ogawa M., Miyoshi M., Inoshima Y., Fukushi H., Hirai K.: Sequence and phylogenetic analyses of highly virulent infectious bursal disease virus. *Arch Virol*, 142:1441-1458, 1997.
51. Yao Kun, Goodwin A. Mark, Vakharia N. Vikram: Generation of a mutant infectious bursal disease virus that does not cause bursal lesions. *Journal of Virol.* 72:2647-2654, 1998.
52. Yeh Hung-Yueh, Rautenschlein Silke, Sharma M. Jagdev: Protective immunity against infectious bursal disease virus in chickens in the absence of virus-specific antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 89:149-158, 2002.
53. Van den Berg T.P., Gonze M., Meulemans G.: Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. *Avian Pathology* 20:133-143, 1991a.
54. Van den Berg T.P., Meulemans G.: Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. *Avian Pathology* 20:409-21, 1991b.
55. Van Loon A.A.W.M., N. de Haas, I. Zeyda, E. Mundt: Alteration of amino acids in VP2 of very virulent infectious bursal disease virus results in tissue culture ad-

- aptation and attenuation in chickens. *Journal of General Virology* 83:121-129, 2002.
56. Velhner M., Lazić S., Petrović T., Aleksić-Kovacević S.: Protection of chickens with maternally derived antibodies after challenge with very virulent infectious bursal disease virus. *Acta Veterinaria* 51:219-226, 2001.
 57. Velhner M., Petrović T., Savić-Jevđenić S., Lazić S.: Vrste i mehanizmi delovanja virusnih vakcina. *Veterinarski glasnik* 56:143-152, 2002.
 58. Vervelde Lonke, Davison T.F.: Comparison of the in situ changes in lymphoid cells during infection with infectious bursal diseases virus in chickens of different ages. *Avian Pathology* 26:803-821, 1997.
 59. Wang X.M., Zeng X.W., Gao H.L., Fu C.Y., Wei P.: Changes in VP2 gene during the attenuation of very virulent infectious bursal disease virus strain Gx isolated in China. *Avian Dis.* 48:77-83, 2003.
 60. Williams A.E., Davison T.F.: Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus. *Avian Pathology* 34(1):4-14, 2005.
 61. Winterfield R.W., Fadly A.M., Bickford A.: Infectivity and distribution of infectious bursal disease virus in the chicken. Persistence of the virus and lesions. *Avian Dis* 622-632, 1972.
 62. Wyeth P.J., Cullen G.A: Transmission of immunity from inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccinated parent chickens to their chicks. *The Veterinary Record* 102:362-363, 1978.
 63. Wyeth P.J.: Passively transferred immunity to IBD following live vaccination of parent chickens by two different routes. *The Veterinary Record*, 29:259-260, 1980.

Primljeno: 10. 09. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Raširenost infekcije herpesvirusom 1 u malim zaptatima goveda na području Južnobačkog i Sremskog okruga

Sava Lazić^{1*}, Tamaš Petrović¹, Diana Lupulović¹, Dejan Bugarski¹, Ivan Pušić¹,
Vladimir Polaček², Marko Maljković¹

¹Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

²Specijalistički veterinarski institut, Kraljevo

Kratak sadržaj

Infekcija govedim herpesvirusom tipa 1 (IBR/IPV virus) predstavlja jednu od najraširenijih infekcija današnjeg govedarstva. Govedi herpesvirus-1 (BHV-1) može biti uzročnik ozbiljnih zdravstvenih poremećaja i velikih ekonomskih gubitaka. Pošto se značajna populacija goveda na području Južnobačkog i Sremskog okruga uzgaja u malim zaptatima, što može u velikoj meri uticati na efikasnost sprovođenje programa suzbijanja i iskorenjivanja BHV-1 infekcije, bilo je neophodno utvrditi njenu raširenost i u ovoj populaciji goveda, što je ujedno i cilj ovog rada. Utvrđivanje prisustva i raširenosti (prevalence) BHV-1 infekcije vršeno je ispitivanjem prisustva specifičnih antitela protiv BHV-1 virusa u uzorcima krvnih seruma pojedinačno držanih goveda ili goveda iz malih zaptata (do 20 grla) prikupljenih tokom sprovođenja Programa mera zdravstvene zaštite goveda 2005. i 2006. godine. Odabir uzoraka je vršen na bazi slučajnog izbora pri čemu se vodilo računa o adekvatnoj zastupljenosti životinja iz svih naseljenih mesta i opština na području Južnobačkog i Sremskog okruga. Na ovaj način je ukupno odabrano i ispitano 16.610 uzorka. Utvrđivanje specifičnih antitela protiv BHV-1 su vršena ELISA tehnikom. Seropozitivne životinje na BHV-1 utvrđene su u svim ispitivanim opštinama, ali one nisu utvrđene i u svim naseljenim mestima. Najveći procenat seropozitivnih životinja je utvrđen na području opštine Beočin (27,27%), zatim slede opštine Titel (27,16%), Žabalj (22,45%) i Stara Pazova (22,15%), a najmanja prevalenca je utvrđena u opštinama Bački Petrovac (8,16%) i Temerin (9,68%). Na području ostalih opština prevalenca se kretala između 10% i 20%. Analizirajući po naseljenim mestima zapaža se da seropozitivna grla nisu utvrđena u 10 naseljenih mesta Južnobačkog okruga i u 14 naselja Sremskog okruga. U ostalim naseljenim mestima (151) oba okruga procenat seropozitivnih grla kretao se od 1 pa do nešto više od 50%. Međutim, ukoliko se rezultati analiziraju na nivou okruga zapaža se da je prevalenca BHV-1

* e-mail: lazic@niv.ns.ac.yu

infekcije skoro identična. Od ispitanih životinja u Sremskom okrugu utvrđeno je 18,42%, a u Južnobačkom okrugu 18,79% seropozitivnih životinja. Nalaz niske prevalencije, koja je utvrđena u većini naseljenih mesta, kao i podatak da u 24 naselja oba okruga nisu utvrđena seropozitivna goveda ohrabruje i ukazuje na mogućnost lakšeg i bržeg sprovođenja mera kontrole i iskorenjivanja BHV-1 infekcije. Dobijenim rezultatima seroloških ispitivanja BHV-1 infekcije omogućen je uvid u imunološki status pojedinačno držanih goveda ili goveda iz malih zapata Južnobačkog i Sremskog okruga, što predstavlja polaznu osnovu za preduzimanje i sprovođenje neophodnih mera u cilju sprečavanja pojave, širenja i suzbijanja ove infekcije.

Ključne reči: BHV-1, seroprevalenca, mali zapati, Južnobački okrug, Sremski okrug

Prevalence of herpesvirus 1 in small herds in Southern Bačka and Srem district

Sava Lazić¹, Tamaš Petrović¹, Diana Lupulović¹, Dejan Bugarski¹, Ivan Pušić¹,
Vladimir Polaček², Marko Maljković¹

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

²Specialised Institute for Veterinary Medicine, Kraljevo

Abstract

Bovine herpesvirus type 1 infection (IBR/IPV virus) presents the most spread infection in nowadays cattle breeding. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) may be an agent of serious health disorders causing great economic losses. Since the largest number of cattle in Southern Bačka and Srem district are raised in small herds (what may considerably influence effective implementation of program for control and eradication of BHV-1 infection) it was necessary to investigate the prevalence of BHV-1 infection in the cattle population in this area, what was the aim of this work.

Detection and estimation of the presence and prevalence of BHV-1 was done by detection of specific antibodies against BHV-1 in sera samples of cattle raised individually or in small herds (up to 20 animals) collected during the State Program of Disease Control in 2005 and 2006. The sampling was randomly carried out taking care that the samples from all the settlements and municipalities in Southern Bačka and Srem were present. A total of 16,610 samples was collected.

Animals seropositive for BHV-1 were detected in all municipalities, but not in all settlements. The highest percent of seropositive animals was found in Beočin municipality (27.27%), Titel municipality (27.16%), Žabalj (22.45%) and Stara Pazova municipality (22.15%). The lowest prevalence was in Bački Petrovac (8.16%) and Temerin municipalities (9.68%). In other municipalities the prevalence ranged be-

tween 10% and 20%. From the obtained results it can be concluded that BHV-1 infection was not present in 10 settlements in Southern Bačka and 14 settlements in Srem district. In other settlements (151) the percentage of seropositive animals ranged from 1 to 50%. However, if we analyze the obtained results in the area, it may be concluded that the prevalence is almost the same: in Srem district there were 18.42% and in Southern Bačka 18.79% seropositive animals.

Low prevalence was detected in the majority of settlements. The data that in 24 settlements in both districts there were no seropositive animals is an encouraging information. This points on a possibility of easier and faster implementation of control measures and eradication of BHV-1 infection. The results obtained in serology examination provide us an insight in immunology status of small herds in Southern Bačka and Srem districts, what is a starting point in designing and implementing necessary measures with the aim to prevent cases of this disease, as well as its spreading and eradication.

Key words: BHV-1, seroprevalence, small herds, Southern Bačka district, Srem district

UVOD

Infekcija govedim herpesvirusom tipa-1 (IBR/IPV virus) predstavlja jednu od najraširenijih infekcija današnjeg govedarstva. Govedi herpesvirus-1 (BHV-1) može biti uzročnik ozbiljnih zdravstvenih poremećaja i velikih ekonomskih gubitaka. Respiratorni sindrom, konjunktivitis, balanopostitis, vulvovaginitis, endometritis, pobačaji, neplodnost i druga oboljenja često mogu biti uzrokovana ovim virusom. Poznato je da se oboljenja koja nastaju infekcijom BHV-1 različito manifestuju i često su uslovljena uzrastom i načinom odgoja goveda, a posebno virulencijom uzročnika.

Međutim, najčešća oboljenja su, ipak, infektivni rinotraheitis kod mlađih i infektivni pustularni vulvovaginitis kod starijih jedinki. Ova oboljenja su se ranije različito nazivala: crveni nos, prašinasta groznica, infektivni nekrotični rinotraheitis, koitalni egzantem, vezikularno veneralno oboljenje i tako dalje. Međutim, kasnije je ipak prihvaćeno, s obzirom na pojavu patognomoničnih simptoma, bioloških karakteristika uzročnika i mesta njegove najčešće izolacije kod obolelih jedinki, da se sva ova oboljenja svedu pod naziv infektivni bovino rinotraheitis i infektivni pustularni vulvovaginitis (IBR/IPV).

Infekcija govedim herpesvirusom 1 u zdravstveno-ekonomskom pogledu predstavlja svojevrstan problem, a štete koje nastaju su velike i mnogobrojne. Utvrđeno je da krava latentno inficirana govedim herpesvirusom 1 tokom prvih 10 nedelja laktacije dnevno proizvodi mleka manje za 0,92 kilograma (Straub O.C., 2001), a takođe je značajno produžen servis period i međutelidbeni interval (Krage Von E. i sar., 1989). Pored ovih i još mnogih drugih direktnih gubitaka, latentna infekcija govedim herpesvirusom 1 nanosi i mnoge indirektno gubitke, koji se često ne mogu prikazati numeričkim iznosima. Zabrana prometa priplodnih goveda, sperme i embriona iz zaraženih zapata, pa i regiona, su primeri indirektnih gubitaka.

Ove zabrane mogu da nanesu veće gubitke nego pojava epizootije IBR-a. Analitičari iz više zemalja su utvrdili da infekcija govedim herpesvirusom-1 nanosi štete koje se mere milionskim iznosima nacionalnih valuta.

Krajem dvadesetog i početkom dvadeset prvog veka zabeležen je vidan napredak u istraživanjima molekularnih i bioloških karakteristika BHV-1. U potpunosti je rasvetljena struktura i funkcija površinskih glikoproteina, a veći deo genoma virusa je sekvencioniran (Babiuk, 1996). Zahvaljujući ovim saznanjima objašnjena su ključna pitanja iz patogeneze, a posebno latencije, kao oblika infekcije ovim virusom. Razvoj imunoprofilaktičkih i dijagnostičkih sredstava, koja se danas veoma uspešno koriste u postupcima suzbijanja i iskorenjivanja infekcije izazvane ovim virusom, su takođe rezultat molekularno-bioloških istraživanja. Bolje upoznavanje bioloških karakteristika BHV-1 i patogeneze doprinelo je da se izrade programi suzbijanja i iskorenjivanja BHV-1 infekcije. Više zemalja Evropske unije iskorenjivanju ove infekcije pristupile su donošenjem zakonskih akata, odnosno direktiva i njihova primena je obavezujuća za sve one koji se bave odgojem priplodnog materijala u govedarstvu. Iskorenjivanje BHV-1 infekcije se danas masovno sprovodi u više zemalja kao što su: Holandija, Belgija, Nemačka, Francuska, Italija, Mađarska, Slovenija i druge.

Razvoj našeg govedarstva je, između ostalog, uslovljen i BHV-1 infekcijom, pa utvrđivanje prisustva i raširenosti BHV-1 infekcije predstavlja veoma značajnu meru i polaznu osnovu za utvrđivanje strategije efikasne kontrole i iskorenjivanja ove infekcije na teritoriji Republike Srbije. Prisustvo i raširenost bilo koje zarazne bolesti, pa i BHV-1 infekcije, je u velikoj meri uslovljeno brojem i gustom populacijom prijemljivih jedinki. Zahvaljujući programima mera kontrole zaraznih bolesti iz prethodnih godina, utvrđenih zdravstvenih problema i zainteresovanosti veterinarskih službi na farmama, prisustvo i raširenost BHV-1 infekcije je u više navrata ispitivano u velikim zapatima goveda. Prisustvo infekcije sa različitim procentom inficiranih grla je utvrđeno u većini ovih zapata. Mali broj velikih zapata goveda je bio slobodan od BHV-1 infekcije (Lazić i sar., 1994). Međutim, prisustvo i raširenost BHV-1 infekcije u malim zapatima individualnog načina odgoja goveda se nije ispitivalo, ili se to radilo veoma retko. Pošto se značajna populacija goveda na području Južnobačkog i Sremskog okruga uzgaja u malim zapatima, što može u velikoj meri uticati na efikasnost sprovođenje programa suzbijanja i iskorenjivanja BHV-1 infekcije, bilo je neophodno utvrditi njenu raširenost i u ovoj populaciji goveda, što je ujedno i cilj ovog rada.

MATERIJAL I METODE RADA

Utvrdjivanje prisustva i raširenosti (prevalence) BHV-1 infekcije vršeno je ispitivanjem prisustva specifičnih antitela protiv BHV-1 virusa u uzorcima krvnih seruma pojedinačno držanih goveda ili goveda iz malih zapata (do 20 grla) prikupljenih tokom sprovođenja Programa mera zdravstvene zaštite goveda 2005. i

2006. godine. Utvrđivanje specifičnih antitela protiv BHV-1 su vršena ELISA tehnikom („Test Line – Ltd.”, Republika Češka).

Odabir uzoraka je vršen na bazi slučajnog izbora pri čemu se vodilo računa o adekvatnoj zastupljenosti životinja iz svih naseljenih mesta i opština na području Južnobačkog i Sremskog okruga. Smisao ovakvog prilaza je u dobijanju statistički značajnog uzorka sa ispitivanog područja. Poznata je činjenica da broj goveda u zapatu čini značajan faktor u epizootologiji BHV-1 infekcije pa su zbog toga zapati iz kojih potiču ispitivana goveda klasifikovani u dve kategorije. Pojedinačno držane životinje i zapati do 5 grla su klasifikovani u jednu, a zapati od 6 do 20 grla u drugu grupu. Na ovaj način je ukupno odabrano i ispitano 16.610 uzorka, a tabelarno je prikazan broj ispitanih uzoraka po okruzima i u odnosu na veličinu zapata.

Okrug	do 5 grla	od 6 – 20 grla	Ukupno
Južnobački	4.340	2.925	7.265
Sremski	6.216	3.138	9.354
Ukupno	10.556	6.063	16.619

REZULTATI ISPITIVANJA

Radi preglednosti i boljeg uvida, dobijeni rezultati ispitivanja prikazani su tabelarno. U tabeli A prikazani su rezultati seroloških ispitivanja BHV-1 infekcije u naseljenim mestima Južnobačkog okruga, a u tabeli B naseljena mesta Sremskog okruga. U tabelama 1, 2 i 3 prikazani su rezultati izračunate seroprevalence po opštinama, a u tabelama 4 i 5 su prikazani rezultati seroprevalence prema broju grla goveda u domaćinstvima.

Tabela A: Tabelarni prikaz rezultata po opštinama/naseljima i prema broju grla goveda u domaćinstvima u Južnobačkom okrugu

Red. br.	Opština / Naselja	Do 5 grla		6 – 20 grla		UKUPNO	
		Preg.	Poz.	Preg.	Poz.	Preg.	Poz.
1.	Novi Sad	685	99	385	79	1070	178
1.1	Novi Sad	30	1	25	3	55	4
1.2	Veternik	18	0	20	0	38	0
1.3	Futog	60	0	25	0	85	0
1.4	Begeč	10	3	30	11	40	14
1.5	Petrovaradin	25	6	5	0	30	6
1.6	Kač	160	15	75	2	235	17
1.7	Kovilj	170	69	80	54	250	123
1.8	Budisava	12	3	20	7	32	10
1.9	Čenej	75	0	50	1	125	1
1.10	Kisač	30	0	35	0	65	0
1.11	Srem, Karlovci	25	0	10	0	35	0
1.12	Bukovac	45	2	5	0	50	2
1.13	Ledinci	14	0	5	1	19	1

1.14	S. Kamenica	11	0	-	-	11	0
2.	B. Petrovac	103	6	130	13	233	19
2.1	Bački Petrovac	14	0	40	2	54	2
2.2	Gložan	29	2	70	9	99	11
2.3	Kulpin	30	0	10	0	40	0
2.4	Maglić	30	4	10	2	40	6
3.	Temerin	55	4	100	11	155	15
3.1	Temerin	55	4	100	11	155	15
4.	Beočin	307	78	210	63	517	141
4.1	Beočin	30	2	10	0	40	2
4.2	Čerević	10	1	20	1	30	2
4.3	Banoštor	25	1	5	0	30	1
4.4	Susek	135	61	105	33	240	94
4.5	Grabovo	15	2	5	1	20	3
4.6	Lug	14	4	50	24	64	28
4.7	Sviloš	70	4	15	4	85	8
4.8	Rakovac	8	3	-	-	8	3
5.	Bač	370	47	155	43	525	90
5.1	Bač	115	11	35	11	150	22
5.2	B. Novo Selo	65	3	5	0	70	3
5.3	Bođani	60	17	25	6	85	23
5.4	Vajska	15	0	5	0	20	0
5.5	Plavna	30	5	25	13	55	18
5.6	Selenča	85	11	60	13	145	24
6.	B. Palanka	563	57	285	49	848	106
6.1	Bačka Palanka	10	1	20	5	30	6
6.2	Nova Gajdobra	35	10	15	4	50	14
6.3	Despotovo	13	0	20	3	33	3
6.4	Karađorđevo	10	0	-	-	10	0
6.5	Mladenovo	15	1	40	4	55	5
6.6	Pivnice	85	6	80	14	165	20
6.7	Silbaš	90	12	55	8	145	20
6.8	Tovariševo	15	0	10	2	25	2
6.9	Čelarevo	25	2	10	5	35	7
6.10	Vizić	60	5	10	0	70	5
6.11	Obrovac	25	5	10	0	35	5
6.12	Parage	45	0	10	0	55	0
6.13	Neštin	80	15	5	4	85	19
6.14	Gajdobra	55	0	-	-	55	0
7.	Bečej	492	66	495	77	987	143
7.1	Bečej	265	43	140	25	405	68
7.2	Bačko Gradište	90	10	40	13	130	23
7.3	B. Petrovo Selo	85	6	55	11	140	17
7.4	Mileševo	27	3	140	20	167	23
7.5	Radičević	10	2	120	8	130	10
7.6	Poljanice	15	2	-	-	15	2

8.	Srbobran	250	24	105	17	355	41
8.1	Srbobran	125	3	75	11	200	14
8.2	Nadalj	110	13	25	4	135	17
8.3	Turija	15	8	5	2	20	10
9.	Žabalj	880	200	550	121	1430	321
9.1	Žabalj	295	77	270	70	565	144
9.2	Gospodinci	125	9	105	3	230	12
9.3	Đurđevo	210	72	100	37	310	109
9.4	Čurug	250	42	75	11	325	53
10.	Titel	635	177	510	134	1145	311
10.1	Titel	105	52	35	13	140	65
10.2	Vilovo	160	29	65	8	225	37
10.3	Lok	85	11	35	11	120	22
10.4	Gardinovci	120	48	30	9	150	57
10.5	Mošorin	40	22	150	33	190	55
10.6	Šajkaš	125	15	195	60	320	75
UKUPNO		4340	758	2925	607	7265	1365

Preg. = pregledani broj uzoraka

Poz. = broj uzoraka u kojima su utvrđena specifična antitela protiv BHV-1 virusa

Tabela B: Tabela prikaz rezultata po opštinama/naseljima i prema broju grla goveda u domaćinstvima u Sremskom okrugu

Red. br.	Opština / Naselja	Do 5 grla		6 – 20 grla		UKUPNO	
		Preg.	Poz.	Preg.	Poz.	Preg.	Poz.
1.	Indija	1131	207	570	122	1701	329
1.1	Indija	90	33	50	19	140	52
1.2	Ljukovo	65	11	5	0	70	11
1.3	Jarkovci	55	20	20	1	75	21
1.4	Novi Karlovci	275	40	270	47	545	87
1.5	S. Slankamen	6	1	-	-	6	1
1.6	N. Slankamen	135	18	55	18	190	36
1.7	Krčedin	155	45	65	19	220	64
1.8	Sl. Vinogradi	30	0	-	-	30	0
1.9	Beška	125	24	35	18	160	42
1.10	Čortanovci	35	4	10	0	45	4
1.11	Maradik	160	11	60	0	220	11
2.	Irig	342	80	160	19	502	99
2.1	Irig	35	15	25	5	60	20
2.2	Rivica	65	16	20	0	85	16
2.3	Krušedol	45	3	50	6	95	9
2.4	K. Prnjavor	10	0	10	0	20	0
2.5	Šatrinci	50	29	15	3	65	33
2.6	Dobro Dol	15	0	10	1	25	1

2.7	V. Remeta	2	0	-	-	2	0
2.8	Grgeteg	15	0	5	1	20	1
2.9	Jazak	90	15	20	3	110	18
2.10	Vrdnik	15	2	5	0	20	2
3.	Pećinci	1209	229	510	130	1719	359
3.1	Pećinci	125	37	15	5	140	42
3.2	Popinci	95	24	65	16	160	40
3.3	Sibač	50	28	50	28	100	56
3.4	Prhovo	80	14	35	8	115	22
3.5	S. Mihaljevci	155	31	85	28	240	59
3.6	Brestač	75	23	20	4	95	27
3.7	Subotičte	43	5	-	-	43	5
3.8	D. Tovarnik	65	3	10	0	75	3
3.9	Tovarnik	20	0	10	8	30	8
3.10	Ogar	70	19	15	5	85	24
3.11	Kupinovo	85	2	30	4	115	6
3.12	Ašanja	66	2	35	3	101	5
3.13	Obrež	35	10	20	5	55	15
3.14	Šimanovci	105	20	30	5	135	25
3.15	Deč	70	6	70	11	140	17
3.16	Karlović	70	5	20	0	90	5
4.	Ruma	973	134	380	65	1353	199
4.1	Ruma	120	20	55	20	175	40
4.2	Mali Radinci	50	10	50	0	100	10
4.3	Pavlovci	35	5	10	3	45	8
4.4	Stejanovci	90	23	25	1	115	24
4.5	Voganj	15	2	-	-	15	2
4.6	Buđanovci	105	16	10	0	115	16
4.7	Dobrinci	28	1	20	5	48	6
4.8	Kraljevci	60	7	30	0	90	7
4.9	Putinci	95	10	40	22	135	32
4.10	D. Petrovci	90	2	25	0	115	2
4.11	Žarkovci	60	13	5	1	65	14
4.12	Hrtkovci	55	9	40	5	95	14
4.13	Nikinci	60	2	60	8	120	10
4.14	Platičevo	75	8	5	0	80	8
4.15	Klenak	15	6	-	-	15	6
4.20	Vitojevci	5	0	5	0	10	0
4.21	Grabovci	15	0	-	-	15	0
5.	Sr. Mitrovica	1263	179	768	159	2031	338
5.1	Sr. Mitrovica	20	3	-	-	20	3
5.2	Ležimir	17	4	60	16	77	20

5.3	Mandelos	17	1	70	7	87	8
5.4	Lačarak	75	32	-	-	75	32
5.5	Martinci	20	3	5	0	25	3
5.6	Kuzmin	30	1	5	3	35	4
5.7	Bosut	11	1	40	6	51	7
5.8	Čalma	35	5	-	-	35	5
5.9	Divoš	15	6	5	1	20	7
5.10	V. Radinci	10	0	-	-	10	0
5.11	Grgurevci	30	6	15	5	45	11
5.12	Bešenovo	14	0	40	6	54	6
5.13	Šuljam	30	5	-	-	30	5
5.14	Sremski Jarak	13	1	120	16	133	17
5.15	Šašinci	32	5	180	70	212	75
5.16	M. Mitrovica	-	-	20	4	20	4
5.17	S. Noćajski	200	41	30	5	230	46
5.18	Noćaj	105	11	15	0	120	11
5.19	Ravnje	210	13	10	0	220	13
5.20	Zasavica (I i II)	120	8	55	5	175	13
5.21	Šišatovac	4	0	20	2	24	2
5.22	Radenković	245	32	46	6	291	38
5.23	Sremska Rača	4	0	20	1	24	1
5.24	B. Pranjavor	6	1	12	6	18	7
6.	Stara Pazova	776	159	520	128	1296	287
6.1	Stara Pazova	53	11	10	2	63	13
6.2	Golubinci	90	16	45	14	135	30
6.3	Vojka	225	13	190	32	415	45
6.4	Krnješevci	95	15	125	22	220	37
6.5	Nova Pazova	3	0	-	-	3	0
6.6	Stari Banovci	110	31	5	5	115	36
6.7	Belegiš	100	32	70	25	170	57
6.8	Surduk	100	41	75	28	175	69
7.	Šid	522	54	230	58	752	112
7.1	Šid	50	0	20	2	70	2
7.2	Vašica	30	3	20	14	50	17
7.3	Ilinci	10	3	-	-	10	3
7.4	Adaševci	10	0	20	0	30	0
7.5	Batrovci	7	0	-	-	7	0
7.6	Morović	7	0	-	-	7	0
7.7	Jamena	55	0	30	3	85	3
7.8	Višnjićevo	15	0	5	0	20	0
7.9	Gibarac	5	5	5	2	10	7
7.10	Bačinci	38	0	20	5	58	5

7.11	Kukujevi	65	21	20	7	85	28
7.12	Erdevik	75	16	25	10	100	26
7.13	Bingula	60	0	20	4	80	4
7.14	Ljuba	5	0	5	0	10	0
7.15	Molovin	25	3	10	5	35	8
7.16	Sot	20	0	10	2	30	2
7.17	Bitić Do	15	0	15	0	30	0
7.18	Berkasovo	10	3	5	4	15	7
7.19	Privina Glava	20	0	-	-	20	0
UKUPNO		6216	1042	3138	681	9354	1723

Preg. = pregledani broj uzoraka

Poz. = broj uzoraka u kojima su utvrđena specifična antitela protiv BHV-1 virusa

Tabela 1: Prikaz seroprevalencije BHV-1 infekcije u opštinama Južnobačkog okruga

Red. broj	Opština	Broj goveda	Br. pregledanih goveda	Br. seropozitivnih	% seropozitivnih
1.	Novi Sad	5.371	1070	178	16,64
2.	Bački Petrovac	1.316	233	19	8,15
3.	Temerin	1.048	155	15	9,68
4.	Beočin	2.700	517	141	27,27
5.	Bač	1.959	525	90	17,14
6.	Bačka Palanka	8.679	848	106	12,50
7.	Bečej	8.310	987	143	14,49
8.	Srbobran	1.878	355	41	11,55
9.	Žabalj	6.058	1430	321	22,45
10.	Titel	7.378	1145	311	27,16
UKUPNO		44.697	7265	1365	18,79

Tabela 2: Prikaz seroprevalencije BHV-1 infekcije u opštinama Sremskog okruga

Red. broj	Opština	Broj goveda	Br. pregledanih goveda	Br. seropozitivnih	% seropozitivnih
1.	Indija	6.144	1701	329	19,34
2.	Irig	3.242	502	99	19,72
3.	Pećinci	7.896	1719	359	20,88
4.	Ruma	7.565	1353	199	14,71
5.	Sr. Mitrovica	15.028	2031	338	16,64
6.	Stara Pazova	6.312	1296	287	22,15
7.	Šid	5.391	752	112	14,89
UKUPNO		51.578	9354	1723	18,42

Tabela 3: Zbirni prikaz seroprevalencije BHV-1 infekcije u Južnobačkom i Sremskom okrugu

Red. broj	Okrug	Broj goveda	Br. pregledanih goveda	Br. seropozitivnih	% seropozitivnih
1.	Južnobački	44.697	7265	1365	18,79
2.	Sremski	51.578	9354	1723	18,42
UKUPNO		96.275	16619	3088	18,58

Tabela 4: Zbirni prikaz rezultata seroloških ispitivanja BHV-1 infekcije u Južnobačkom okrugu prema broju grla goveda u gazdinstvima

Red. br.	Opština	Do 5 grla			6-20 grla			UKUPNO		
		Preg	Poz	%poz	Preg	Poz	%poz	Preg	Poz	%poz
1.	Novi Sad	685	99	14,45	385	79	20,52	1070	178	16,64
2.	B. Petrovac	103	6	5,83	130	13	10,00	233	19	8,15
3.	Temerin	55	4	7,27	100	11	11,00	155	15	9,68
4.	Beočin	307	78	25,41	210	63	30,00	517	141	27,27
5.	Bač	370	47	12,70	155	43	27,74	525	90	17,14
6.	B. Palanka	563	57	10,12	285	49	17,19	848	106	12,50
7.	Bečej	492	66	13,41	495	77	15,56	987	143	14,49
8.	Srbobran	250	24	9,60	105	17	16,19	355	41	11,55
9.	Žabalj	880	200	22,73	550	121	22,00	1430	321	22,45
10.	Titel	635	177	27,87	510	134	26,27	1145	311	27,16
UKUPNO		4340	758	17,47	2925	607	20,75	7265	1365	18,79

Tabela 5: Zbirni prikaz rezultata seroloških ispitivanja BHV-1 infekcije u Sremskom okrugu prema broju grla goveda u gazdinstvima

Red. br.	Opština	Do 5 grla			6-20 grla			UKUPNO		
		Preg	Poz	%poz	Preg	Poz	%poz	Preg	Poz	%poz
1.	Indija	1131	207	18,30	570	122	21,40	1701	329	19,34
2.	Irig	342	80	23,39	160	19	11,88	502	99	19,72
3.	Pečinci	1209	229	18,94	510	130	25,49	1719	359	20,88
4.	Ruma	973	134	13,77	380	65	17,10	1353	199	14,71
5.	S. Mitrovica	1263	179	14,17	768	159	20,70	2031	338	16,64
6.	S. Pazova	776	159	20,49	520	128	24,61	1296	287	22,15
7.	Šid	522	54	10,34	230	58	25,22	752	112	14,89
UKUPNO		6216	1042	16,76	3138	681	21,70	9354	1723	18,42

DISKUSIJA

Seropozitivne životinje na BHV-1 utvrđene su u svim ispitivanim opštinama, ali one nisu utvrđene i u svim naseljenim mestima. Najveći procenat seropozitivnih životinja je utvrđen na području opštine Beočin (27,27%), zatim slede opštine Titel (27,16%), Žabalj (22,45%) i Stara Pazova (22,15%), a najmanja prevalenca je

utvrđena u opštinama Bački Petrovac (8,16%) i Temerin (9,68%). Na području ostalih opština prevalenca se kretala između 10% i 20%.

Ukoliko se analiziraju rezultati ispitivanja po naseljenim mestima zapaža se da seropozitivna grla na BHV-1 nisu utvrđena u 10 naseljenih mesta Južnobačkog okruga (Veternik, Futog, Sremski Karlovci, Kisač, Sremska Kamenica, Kulpin, Vajska, Karađorđevo, Parage i Gajdobra) i u 14 naselja Sremskog okruga (Slankamenački Vinogradi, Krušedolski Prnjavor, Velika Remeta, Vitojevci, Grabovci, Veliki Radinci, Nova Pazova, Adaševci, Batrovci, Morović, Višnjicevo, Ljuba, Bitić Do i Privina Glava). U ostalim naseljenim mestima (151) oba okruga procenat seropozitivnih grla kretao se od 1 pa do nešto više od 50%. Najviše seropozitivnih životinja utvrđeno je naseljima Sibač (56%), Šatrinci (50,76%), Kovilj (49,2%), Titel (46,43%), Lug (43,75%), Lačarak (42,66%), Surduk (39,42%), Susek (39,16%), Gardinovci (38%), Indija (37,14%), Šašinci (35,37%), Đurđevo (35,16%) i Begeč (35%). Međutim, ukoliko se rezultati analiziraju na nivou okruga zapaža se da je prevalenca BHV-1 infekcije skoro potpuno ista u oba okruga. Od ispitanih životinja u Sremskom okrugu utvrđeno je 18,42%, a u Južnobačkom okrugu 18,79% seropozitivnih životinja. Nalaz niske prevalencije (manje od 20% seropozitivnih životinja), koja je utvrđena u većini naseljenih mesta, kao i podatak da u 24 naselja oba okruga nisu utvrđena seropozitivna goveda ohrabruje i ukazuje na mogućnost lakšeg i bržeg sprovođenja mera kontrole i iskorenjivanja BHV-1 infekcije.

Utvrđivanje raširenosti BHV-1 infekcije bila je predmet ispitivanja mnogih istraživača u svetu. Od prve izolacije virusa 1956. godine, pa do danas ispitivanje prevalencije vršeno je sa više aspekata. Najčešće je ispitivanje prevalencije vršeno sa ciljem da se sagleda raširenost infekcije na određenim lokalitetima ili celoj državi, pa je na bazi takvih ispitivanja utvrđeno da je BHV-1 infekcija jedna od najraširenijih infekcija u današnjem govedarstvu. Utvrđena prevalenca je često analizirana sa aspekta brojnog stanja goveda u zapatu, rase, uzrasta, udaljenosti između zapata, lokaliteta i drugo. Tako je u Mađarskoj utvrđeno da prevalenca BHV-1 infekcije u velikim zapatima (zapati veći od 50 grla) iznosila 64,1%, dok je u malim zapatima (zapati manji od 50 grla) 1993. godine utvrđena prevalenca 13,5%, a 1997. godine 15,7% (Tekes i sar., 1999). U Belgiji je 1998. godine utvrđeno da prevalenca BHV-1 infekcije u mlečnim zapatima iznosi 35%, u tovnim zapatima 31% i u mešovitim zapatima goveda 42% (Boelaert i sar., 2000). U Poljskoj je u periodu od 1996-1998. godine utvrđeno da prevalenca na BHV-1 iznosi 20,6% (Rola Jerzy i sar., 2007). U severozapadnoj Italiji, oblasti Piedmont, u periodu od 2002-2003. godine ispitano je 9706 grla iz 392 zapata, a prevalenca BHV-1 infekcije je iznosila 69,4% (Mannelli i sar., 2004).

Utvrđeni procenat seropozitivnih životinja u populaciji goveda Južnobačkog i Sremskog okruga je možda i veća nego što se pretpostavljalo. Naime, verovalo se da je BHV-1 infekcija bolest velikih zapata i aglomeracija goveda, međutim prodajom priplodnog materijala iz velikih farmi društvenog sektora, a posebno njihovom vlasničkom transformacijom tokom poslednjih godina, BHV-1 infekcija je sada

prisutna i u malim zapatima individualnog načina odgoja. Ustanovljena prevalenca BHV-1 u malim zapatima goveda je još uvek mnogo niža od one utvrđene u velikim zapatima (Lazić i sar., 1994).

Dobijeni rezultati ispitivanja su u pogledu suzbijanja i iskorenjivanja BHV-1 infekcije u malim zapatima goveda, od kojih mnogi imaju tendenciju da postanu zapati priplodnog materijala, veoma korisni i primenljivi. Priplodni zapati goveda ne samo što moraju biti rasadnici visoko produktivnog materijala, već i rasadnici „zdravog” materijala slobodnog od svih potencijalnih patogena koji se životinjama mogu uneti u zapat. Prema tome, priplodni materijal u govedarstvu (priplodne junice, sperma, embrioni) između ostalog moraju biti slobodni i od BHV-1 infekcije. Ovakvi zahtevi su propisani i u zemljama Evropske unije (Direktive: 2004/215; 2003/43 i 89/556) pa iskorenjivanje BHV-1 infekcije mora biti obavezujuće za sve odgajivače goveda koji imaju nameru ili se već bave prometom priplodnih junica, krava, semena ili embriona, odnosno njihovi zapati goveda moraju imati status zapata slobodnih od BHV-1 infekcije.

Dobijenim rezultatima seroloških ispitivanja BHV-1 infekcije omogućen je uvid u imunološki status ispitivanih životinja, odnosno utvrđivanje seroprevalence kod pojedinačno držanih goveda ili kod goveda iz malih zapata Južnobačkog i Sremskog okruga. Izvršena ispitivanja su omogućila praćenje epizootiološke situacije, što predstavlja polaznu osnovu za preduzimanje i sprovođenje neophodnih mera u cilju sprečavanja pojave, širenja i suzbijanja ove infekcije.

LITERATURA

1. Babiuk L.A., Van Drunen Littel-Van den Hurk, Tikoo S.K.: Immunology of bovine herpesvirus 1 infection, *Veterinary Microbiology*, 53, 31-42, 1996.
2. Babiuk L.A., L'Italien J., Littel D., Hurk S., Zamb T., Lawman M.J.P., Hughes I.G., Gifford G.A.: Protection of cattle from bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) infection by immunization with individual viral glycoproteins, *Virology*, 159, 57-66, 1987.
3. Boelaert F., Birnot P., Dispas M., Vanopdenbosch and Kerkhofs P.: Prevalence of Bovine Herpesvirus 1 in the Belgian cattle population, *Preventive Veterinary Medicine*, 45, 3, 285-295 (11), 2000.
4. Franken P.: IBR-eradikation – The Dutch Approach, In: Proceedings, XXII World Buiatrics Congress, August 18-23, Hannover, 2002.
5. Krage von E., Tezffert J., Ziegler L., Bergmann H.: Die ökologische Bedeutung der Vovid-Herpes-Virus-1 Infection des Rinds, *Monatschrift für Veterinarmedizin*, 2, 41-44, 1989.
6. Lazić S., Pavlović R., Lalić M., Đurišić S., Jovičin M.: Rasprostranjenost infekcije izazvane goveđim herpesvirusom-1 u matičnim zapatima goveda Vojvodine u 1992. i 1993. godini, *Veterinarski glasnik*, 49, 2-3, 99-103, 1994.

7. Lazić S., Petrović T., Lupulović D., Jovičin M.: Significance of latent bovine infection due to IBR virus and its reactivation by corticosteroids, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 19, 5-6, 91-96, 2003.
8. Lazić S., Petrović T., Lupulović D., Dimitrijević D., Jovičin M.: Govedi herpesvirus-1: mogućnosti profilakse, suzbijanja i eradikacije. U: Zbornik radova, Četvrto savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, Budva, 10-14. jun, Beograd: Fakultet veterinarske medicine, 2002, 92-96.
9. Lazić S., Petrović T., Lupulović Diana, Jovičin M.: Značaj latentne infekcije goveda uzrokovane IBR virusom i mogućnosti njene eradikacije, *Veterinarski glasnik*, 57, 7-8, 463-472, 2003.
10. Mannelli A., Menzano A., Chiavcci L., Vitale N., Masoero L., Callegari S.: Spatial analysis of BHV1 serological status in Piedmont, Italy, as guide for differential eradication strategies, Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine. In: Proceedings of a meeting held at the Martigny, Switzerland on the 24th-26th March 2004.
11. Perrin B., Bitsch V., Cordoli P., Edwards S., Eloit M., Guerin B., Lenihan P., Perrin M., Ronsholt L., Van Oirschot J. T., Van Opdenbosch E. Wellemans G., Witzmann G. and Thibier M.: A European comparative study of serological methods for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis, *Rev Sci Tech Off in. Epiz*, 13, 947-960, 1993.
12. Rola Jerzy, Zumudzinski J. F.: Situation of Bovine Herpesvirus 1 Infection in cattle in Poland, 6. Stenfalers Symposium zur BHV1, BVD und Paratuberkulose, Stendal, 7 – 9. März 2007.
13. Tekes L., Markos B., Kecskemeti S., Meshesfalvi J., Mate Z., Kudron E.: Prevalence of Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) Infection in Hungarian Cattle Herds, *Acta Veterinaria Hungarica* 47, 3, 303-309, 1999.
14. Straub O.C: Advances in BHV-1 (IBR) research, *Dtsch Tierarztl Wschr*, 108, 419-422, 2001.

Primljeno: 10. 07. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Ispitivanje raširenosti maedi-visna u zapatima ovaca

Branka Vidić, Živoslav Grgić, Sara Savić-Jevđenić*,

Marko Maljković, Dubravka Milanov

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

Progresivna pneumonija ovaca i maedi su termini koji označavaju hronično virusno oboljenje ovaca. Maedi-visna virus može izazvati oboljenje nazvano visna, a to je bolest nervnog sistema sa znacima pareze i paralize. Maedi-visnu pored pneumonije, karakterišu artritis, tvrdokorni mastitis i slabo napredovanje jaganjaca. Ovo oboljenje je u bliskoj etiološkoj vezi sa encefalitisom i artritisom koza.

Virus maedi-visna i virus progresivne pneumonije ovaca su nekonogeni retrovirusi ovaca koji pripadaju podfamiliji *Lentivirinae*. Oni izazivaju perzistentnu infekciju kod ovaca sa limfoproliferativnim promenama u plućima, tkivu mlečne žlezde, mozgu i zglobovima. Najraniji izveštaji o bolesti potiču iz Južne Afrike i SAD, a danas se bolest javlja u većini zemalja gde se gaje ovce. Način na koji se prenosi bolest i njen značaj nisu još uvek potpuno ustanovljeni. Inkubacioni period je veoma dug, i većina ovaca sa kliničkim simptomima je starija od 3 godine. Najraniji znaci su izražena apatija, mršavljenje i iscrpljenost. Može se javiti kašalj i iscedak iz nosa, pneumonija kao posledica sekundarne bakterijske infekcije. Promene na mlečnoj žlezdi takođe sporo napreduju, vime je uvećano i veoma čvrsto, ali su papile mlitave; jagnjad obolelih ovaca zbog promena na mlečnoj žlezdi zaostaju u rastu. Klinički, bolest traje 3-10 meseci i uvek je sa smrtnim ishodom. Virus se može izolovati na kulturi tkiva i identifikovati metodom vezivanja komplemenata i testom neutralizacije virusa. Za dijagnostiku ovog oboljenja koriste se i različite serološke metode: agar gel imunodifuzioni test, indirektni test imunofluorescencije i ELISA test. Ispitivanjem je obuhvaćeno 2000 uzoraka seruma ovaca, iz 4 epizootička područja: Naučni institut za veterinarstvo Srbije (NIVS) Beograd, Veterinarski specijalistički institut (VSI) Sombor; Veterinarski specijalistički institut (VSI) Subotica i Veterinarski specijalistički institut (VSI) Zrenjanin po 500 reprezentativnih uzoraka. Dokazivanje specifičnih antitela za maedi-visna virus (MVV) vršeno je primenom ELISA tehnike, upotrebom komercijalnog seta CHEKIT-CAEV/MVV, proizvođača IDEXX. Na osnovu zbirnih rezultata ispitivanja 2000 uzoraka seruma ovaca na prisustvo antitela protiv MVV, možemo konstatovati

* e-mail: sara@niv.ns.ac.yu

da je dokazano 325, odnosno 16,25% pozitivnih ovaca, dok smo kod 45 životinja (2,25%) ustanovili sumnjivu reakciju. Bolest je značajna zbog šteta koje nastaju uginjavanjem, kao i zbog ograničavanja trgovine. Činjenica da je infekcija sa MVV dokazana u populaciji ovaca ukazuje da se ovoj infekciji mora posveti određena pažnja.

Ključne reči: maedi-visna, ovce, prevalenca

Prevalence of maedi-visna in sheep herds

Branka Vidić, Živoslav Grgić, Sara Savić-Jevđenić*,

Marko Maljković, Dubravka Milanov

Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

Progressive sheep pneumonia and maedi are terms that denote chronic virus sheep disease. Maedi-visna virus causes a disease named visna, which is a disease of nervous system with the symptoms of paresis and paralyses. Besides pneumonia, maedi-visna is characterized by arthritis, heavy mastitis and slow growth of lambs. This diseases is closely related to encephalitis and goat arthritis. Virus maedi-visna and the virus of sheep progressive pneumonia are neocogen sheep retroviruses that belong to a subfamily *Lentivirinae*. They cause persistent infection with lymphoproliferatic changes, mammary gland tissues, brain and joints. The earliest reports on the disease come from South Africa and SAD, but nowadays the disease is present in all the countries where sheep are raised. The ways of transmission and their importance are still not detected. Incubation period is very long, and most of sheep with clinical symptoms are older than 3 years. The most common symptoms are apathy, weight loss and exhaustion. It may be followed by coughing and nasal discharge, pneumonia as a consequence of secondary bacterial infection. The changes on mammary gland appear slowly, the udders are enlarged and hard, but papillae are flaccid. Due to changes on mammary glands lambs of the infected sheep are often weak and less developed. Clinically, the disease lasts 3-10 months always with fatal outcome. The virus may be isolated on tissue culture or identified with the method of complement fixation and virus neutralisation test. Different serology methods are used for diagnostics: agar gel immunodiffusion test, indirect immunofluorescence test and ELISA test. This survey included 2000 sera samples from sheep in 4 epizootiology areas of the Scientific Veterinary Institute of Serbia (NIVS) Belgrade, Veterinary Specialist Institute (VSI) Sombor, Veterinary Specialist Institute (VSI) Subotica and Veterinary Specialist Institute (VSI) Zrenjanin, each with 500 representative samples. The detection of specific antibodies against maedi-visna virus (MVV) was done by

ELISA technique, using commercial set kit CHEKIT-CAEV/MVV, produced by IDEXX. Based on the obtained results from 2000 seep sera tested for MVV antibodies, in 325 cases (16.24%) sheep were seropositive, while only 45 (2.25%) sheep were suspicious (ambiguous). The disease is important because of economic losses, what restricts trade. The fact that MVV is proved in sheep population points out the fact that more attention should be given to this infection.

Key words: maedi-visna, sheep, prevalence

UVOD

Progresivna pneumonija ovaca i maedi su termini koji označavaju hronično virusno oboljenje ovaca koje se manifestuje progresivnom pneumonijom. Maedi-visna virus može izazvati oboljenje nazvano visna, a to je bolest nervnog sistema sa znacima pareze i paralize. Maedi-visnu pored pneumonije, karakteriše artritis, tvrdokorni mastitis i slabo napredovanje jaganjaca. Ovo oboljenje je u bliskoj etiološkoj vezi sa encefalitisom i artritisom koza.

Virus maedi-visna i virus progresivne pneumonije ovaca su neokogeni retrovirusi ovaca koji pripadaju podfamiliji *Lentivirinae*. Oni izazivaju perzistentnu infekciju kod ovaca sa limfoproliferativnim promenama u plućima, tkivu mlečne žlezde, mozgu i zglobovima. Navedeni virusi nisu identični, ali pripadaju jednom tipu virusa. Sličnost u kliničkim manifestacijama oboljenja otvara mogućnost diskusije o ovim bolestima kao pojedinačnim entitetima. Iako pripadaju jednom tipu virusa izolati prirodno inficiranih ovaca su genetički heterogeni i ne postoje dva izolata koja su identična (Jolly, Narayan, 1989). Antigenske promene virusa su uobičajene što omogućava perzistentno prisustvo virusa kod domaćina. Nije dokazana razlika u patogenosti između izolata (Pritchard i sar., 1995). Postoji veliki stepen sličnosti sa lentivirusima koji izazivaju encefalitis i artritis koza (Marcom i sar., 1991; Cheevers, McGuire, 1988; Petursson i sar., 1992).

Najraniji izveštaji o bolesti potiču iz Južne Afrike i SAD (Straub, 2004; Cutlip i sar., 1988; Watt i sar., 1990), a danas se bolest javlja u većini zemalja gde se gaje ovce.

Ovce i koze su jedine vrste za koje se zna da su podložne infekciji. Eksperimentalna infekcija nije bila uspešna kod goveda, jelena, svinja, pasa, konja, pilića, miševa i pacova (Straub, 2004; Lacerenza i sar., 2006). Ne postoji rasna predispozicija za ovu zarazu. Prevalenca infektivnog virusa razlikuje se među farmama, regionima i zemljama. U Americi infekcija virusom progresivne pneumonije ovaca široko je rasprostranjena na zapadu i srednjem zapadu i serološka reakcija u nadzoru ovaca u različitim državama kreće se od 1% do 68% (Straub, 2004; Cutlip i sar., 1988; Christodouloupoulos, 2006; Pritchard i sar., 2000). Istraživanje u Kanadi (Simard, Morley, 1991) je otkrilo 19% ovaca starijih od 1 godine sa antitelima; 63% stada je bilo inficirano i srednja vrednost prevalencije stada je 12%. Stopa prevalencije je niža u zemljama, gde se infekcija pojavila relativno skoro.

Način na koji se prenosi bolest i njena važnost nisu još uvek potpuno ustanovljeni. Ovce su podložne bolesti u svakom životnom dobu.

Inkubacioni period je veoma dug i većina ovaca sa kliničkim simptomima je starija od 3 godine. Simptomi bolesti razvijaju se pritajeno i polako. Najraniji znaci su izražena apatija, mršavljenje i iscrpljenost. Respiratorne smetnje nisu vidljivi u početnom stadijumu bolesti, ali kod kretanja stada, obolela ovca zaostaje za ostalima. Može se javiti kašalj i iscedak iz nosa, pneumonija kao posledica sekundarne bakterijske infekcije. Temperatura je u granicama normale. Klinički bolest traje 3-10 meseci i uvek je sa smrtnim ishodom. Kod nekih ovaca respiratorne smetnje izostaju i glavne manifestacije su mršavljenje i simptom slabljenja ovaca.

Promene na mlečnoj žlezdi takođe sporo napreduju i evidentne su u trećoj ili kasnijoj laktaciji kada se bolest u potpunosti manifestuje (Blacklaws B.A., 2004). U odmaklim slučajevima vime je uvećano i veoma tvrdo, ali su papile mlitave, mleko je bez promena. Jagnje obolele ovce zbog promena na mlečnoj žlezdi zaostaje u rastu. Artritis se pojavljuje kod inficiranih ovaca, starih 1 do 6 godina. Karpalni zglobovi su često napadnuti i vidno natečeni (15). Bolesne ovce počinju da hramlju i mršave.

Virus se može izolovati na kulturi tkiva i identifikovati metodom vezivanja komplemenata i testom neutralizacije virusa. Mnoge zemlje za dijagnostiku ovog oboljenja koriste različite serološke metode: agar gel imunodifuzioni test, indirektni test imunofluorescencije i ELISA test.

Utvrđivanje prisustva lentivirusnih infekcija ovaca, u ovom slučaju maedi-visna, važno je zbog prirode oboljenja. Pre svega radi se o oboljenju sa dugim inkubacionim periodom, koje se završava smrtnim ishodom nakon dužeg toka bolesti. Kontrolu ove zarazne bolesti komplikuje nemogućnost lečenja, nepostojanje vakcine, a mogućnosti profilakse su ograničene. Na osnovu iznetih podataka ispitivanje prisustva maedi-visna i u našoj zemlji ima puno opravdanja, kao i zbog činjenice da do sada ovakva ispitivanja kod nas nisu rađena.

MATERIJAL I METOD

Područje – Ispitivanja su obavljena na 4 epizootiološka područja: Naučni institut za veterinarstvo Srbije (NIVS), Beograd, Veterinarski specijalistički institut (VSI) Sombor, Veterinarski specijalistički institut (VSI) Subotica i Veterinarski specijalistički institut (VSI) Zrenjanin.

Životinje – Ispitivanjem je obuhvaćeno 2000 uzoraka seruma ovaca, iz svakog epizootiološkog područja po 500 uzoraka, prikupljenih tokom sprovođenja Programa mera zdravstvene zaštite životinja u 2005. godine. Broj ispitanih seruma iz svake epizootiološke jedinice je reprezentativni uzorak u odnosu na ukupan broj uzoraka/grla ovaca, a uzorkovanje je vršeno pod nadzorom veterinarske inspekcije.

Krvni serumi – Ispitivanjima je obuhvaćeno ukupno 2000 uzoraka seruma ovaca. Dokazivanje specifičnih antitela za maedi-visna virus (MVV) vršeno je primenom ELISA tehnike, upotrebom komercijalnog seta CHEKIT-CAEV/MVV, IDEXX Lab. Dobijeni rezultati su ocenjeni kao negativni, sumnjivi i pozitivni.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja na prisustvo maedi-visna virusa prikazani su u tabelama 1, 2, 3, 4 i 5.

Na epizootiološkom području NIVS Beograd ispitano je 500 uzoraka seruma ovaca, a pozitivni nalaz utvrđen je kod 5 životinja, odnosno 1% (tab. 1). Četiri ovce su sa područja opštine Zemun, a jedna iz opštine Palilula.

U krvnim serumima ovaca koje potiču iz epizootiološkog područja severna Bačka (Sombor) pozitivni nalaz utvrđen je kod 155 ovaca, ili 31%. Broj sumnjivih životinja iznosio je 30, ili 6%. Ukupan broj ovaca koje su na ovom području ocenjene pozitivne i sumnjive iznosio je 185, ili 37%. Pozitivna grla utvrđena su u svih 6 opština, a procenat seroreaktora kretao se od 4% opština Vrbas, do 56,92% u opštini Odžaci (tab. 2).

U tabeli 3 prikazani su rezultati ispitivanja krvnih seruma ovaca na MVV u okruzima Severni i Srednji Banat (VSI Zrenjanin). Analizirajući oba okruga utvrđeno je da broj pozitivnih grla iznosi 14,6%, a sumnjivih 2%. Od ukupno 8 opština, seropozitivne ovce otkrivene su na području 6 opština, a najveći procenat pozitivnih životinja utvrđen je u opštini Kikinda (28,33%).

Na području Severnobačkog okruga, područje VSI Subotica, pozitivni nalaz utvrđen je kod 92 životinje, odnosno 18,4% (tab. 4), a sumnjiva reakcija kod 5, odnosno 1% ispitanih uzoraka. Seropozitivna grla su otkrivena na području 4 od 5 opština Severnobačkog okruga, a najveći procenat pozitivnih nalaza utvrđen je u opštini Ada, 26,82%.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja uzoraka krvnih seruma ovaca na prisustvo maedi-visna virusa na epizootiološkom području Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije, Beograd

Opština	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Obrenovac	81	-	-	-	-	-	
Lazarevac	70	-	-	-	-	-	
Zemun	35	4	11,42%	-	-	4	11,42%
Grocka	21	-	-	-	-	-	
Mladenovac	182	-	-	-	-	-	
Sopot	31	-	-	-	-	-	
Barajevo	42	-	-	-	-	-	
Voždovac	28	-	-	-	-	-	
Palilula	10	1	10%	-	-	1	10%
<i>Ukupno</i>	500	5	1%	-	-	5	1%

Tabela 2. Rezultati ispitivanja uzoraka krvnih seruma ovaca na prisustvo maedi-visna virusa na epizootiološkom području Veterinarskog specijalističkog instituta, Sombor

Opština	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Apatin	45	13	28,88%	9	20%	22	48,88%
Bačka Topola	110	43	39,09%	9	8,1%	52	47,27%
Kula	65	22	33,84%	4	6,15%	26	40%
Odžaci	65	37	56,92%	2	3,07%	39	60%
Sombor	140	37	26,42%	5	3,57%	42	30%
Vrbas	75	3	4%	1	1,33%	4	5,33%
Ukupno	500	155	31%	30	6%	185	37%

Tabela 3. Rezultati ispitivanja uzoraka krvnih seruma ovaca na prisustvo maedi-visna virusa na epizootiološkom području Veterinarskog specijalističkog instituta, Zrenjanin

Okrug Severni Banat

Opština	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Kikinda	60	17	28,33%	4	6,66%	21	35%
Novi Kneževac	30	7	23,33%	-	-	7	23,33%
Čoka	60	9	15%	2	3,33%	11	18,33%
Ukupno	150	33	22%	6	4%	39	26%

Okrug Srednji Banat

Opština	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Novi Bečej	70	10	14,28%	1	1,42%	11	15,71%
Nova Crnja	20	-	-	-	-	-	-
Sečanj	30	-	-	-	-	-	-
Zrenjanin	170	25	14,70%	3	1,76%	28	16,47%
Žitište	60	5	8,33%	-	-	5	8,33%
Ukupno	350	40	11,42%	4	1,14%	44	12,57%

Ukupno epizootiološko područje Veterinarskog specijalističkog instituta, Zrenjanin

Okrug	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Severni Banat	150	33	22%	6	4%	39	26%
Srednji Banat	350	40	11,42%	4	1,14%	44	12,57%
Ukupno	500	73	14,6%	10	2%	83	16,6%

Tabela 4. Rezultati ispitivanja uzoraka krvnih seruma ovaca na prisustvo maedi-visna virusa na epizootiološkom području Veterinarskog specijalističkog instituta, Subotica

Opština	Broj uzoraka	Broj pozitivnih	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
Ada	82	22	26,82%	1	1,21%	23	28,04%
Senta	105	24	22,85%	-	-	24	22,85%
Mali Idoš	15	-	-	-	-	-	-
widctIpar Kanjiža	149	34	22,81%	4	2,68%	38	25,50%
Subotica	149	12	8,05%	-	-	12	8,05%
Ukupno	500	92	18,4%	5	1%	97	19,4%

Tabela 5. Zbirni rezultati ispitivanja uzoraka krvnih seruma ovaca na prisustvo antitela protiv maedi-visna virusa na 4 epizootiološka područja: Naučni institut za veterinarstvo Srbije (NIVS) Beograd, Veterinarski specijalistički institut (VSI) Sombor; Veterinarski specijalistički institut (VSI) Subotica i Veterinarski specijalistički institut (VSI) Zrenjanin

Epizoot. područje	Broj uzor.	Broj pozit.	Procenat pozitivnih	Broj sumnjivih	Procenat sumnjivih	Broj pozitivnih i sumnjivih	Procenat pozitivnih i sumnjivih
NIVS Beograd	500	5	1%	-	-	5	1%
VSI Sombor	500	155	31%	30	6%	185	37%
VSI Subotica	500	92	18,4%	5	1%	97	19,4%
VSI Zrenjanin	500	73	14,6%	10	2%	83	16,6%
Ukupno	2000	325	16,25%	45	2,25%	370	18,5%

Na osnovu zbirnih rezultata ispitivanja 2000 uzoraka seruma ovaca na prisustvo MVV, možemo konstatovati da je dokazano 325, odnosno 16,25% pozitivnih ovaca, dok smo kod 45 životinja (2,25%) ustanovili sumnjivu reakciju (tab. 5). Dobijeni rezultati ukazuju da je nivo seroprevalence značajan. Dobijeni rezultati ispitivanja raširenosti infekcije sa MVV su značajni sa više aspekata.

Jedan od važnih faktora koji su uticali na širenje ovog oboljenja u različitim zemljama kao što su Danska, Norveška, Finska i Velika Britanija je i nekontrolisan promet životinja. U navedenim zemljama zabeležen je različit nivo seroprevalence za ovo oboljenje (Berriatua i sar., 2003; Ravazzolo i sar., 2001; Simard, Morley, 1991; Sihvonen i sar., 1999; Gjerset, 2007; Watt i sar., 1990; Christodouloupoulos, 2006). Procenat seroprevalence povećava se sa starošću ovaca. Utvrđeno je da se kod ovaca uzrastu od godinu dana prevalenca iznosi 11-27%, a kod ovaca starijih od 6 godina 81-93% (Ravazzolo A.P. i sar., 2001). Procenat seropozitivnih grla veći je u stadima gde je prisutna plućna adenomatoza.

Jagnjad se inficiraju sisanjem kolostruma ili u kontaktu sa zaraženom ovcom. Infekcija se u stadu širi brzo i veći broj životinja registruje se kao seropozitivan, dve godine od unošenja u zapat inficirane životinje. Inkubacija kod ove infekcije je duga (2-3 godine), infekcija se prenosi kapljično, ali se životinje mogu inficirati i kontaminiranom hranom i vodom. Virus prenose i insekti, ali se zaraza može preneti i proširiti iglama kod vakcinacije ili vađenja krvi.

Klinička manifestacija bolesti se javlja kod ovaca starijih od 2 godine i verovatno da će se pojaviti kada prevalenca infekcije u stadu pređe 50%. Iako je infekcija uobičajena u mnogim stadima, pojava kliničke bolesti je obično retka. Visoka stopa mortaliteta se javila kod inficiranih stada na Islandu, a zabeležena je u Holandiji i u nekim stadima u Americi, ali ovo je izuzetak. U većini inficiranih stada klinička manifestacija bolesti se retko javlja. Ekonomski gubici su najčešće vezani za subkliničku formu infekcije, kada je produktivnost stada značajno smanjena.

U različitim zemljama koristi se agar gel imunodifuzioni test, indirektni test imunofluorescencije i ELISA serološki test. Agar gel imunodifuzioni test se lako izvodi, nije skup, i iz tih razloga je verovatno najuobičajeniji test u rutinskom dijagnostičkom testiranju. On otkriva precipitirajuća antitela usmerena protiv glavne površinskog glikoproteina gp135. Test nije visoko osetljiv, pošto se precipitirajuća antitela protiv gp135 do detektibilnog nivoa sintetišu sporo nakon infekcije. Sporiji i kasniji razvoj ovih antitela se mora uzeti u obzir prilikom tumačenja negativnog nalaza. ELISA tehnikom se mnogo ranije nakon infekcije otkrivaju antitela pa se ova metoda najčešće koristi u dijagnostici infekcije (Straub, 2004; Cutlip i sar., 1988). Spori razvoj ovih antitela nakon infekcije mora da se razmotri u tumačenju negativnog testa. Pasivno stečena antitela, perzistiraju 6 meseci tako da serološko ispitivanje ovaca pre ovog starosnog doba ima ograničavajuću vrednost.

Vrednost serološkog ispitivanja sa aktuelnim metodologijama počiva prvenstveno na uspostavljanje statusa infekcije stada. Negativan test kod pojedinačnih ovaca može da znači da je ovca slobodna od infekcije, ali može da se pojavi i kod inficirane životinje koja još uvek nije reagovala na infekciju. Postoji ograničena vrednost i pozitivnih nalaza jer postoji visoka prevalenca seropozitivnosti u mnogim stadima, naročito kod starijih životinja i pozitivni serološki test ne znači da simptomi ili lezije mogu da se pripišu infekciji ovog virusa. Tako, na primer, pozitivan serološki

test kod ovce koja je mršava može da se smatra kao potpora za dijagnostikovanje ove bolesti kao uzrok hroničnog mršavljenja.

U prošlosti jedini vid kontrole oboljenja bila je eradikacija bolesti kompletnim uništavanjem svih ovaca na datom području i ponovnim obnavljanjem novih stada. Međutim, moguće je u velikoj meri smanjiti prevalencu na jedan od dva metoda (Straub, 2004; Cutlip i sar., 1988). Prvi metod zahteva odvajanje jagnjadi od ovaca neposredno nakon jagnjenja i uskraćivanje uzimanja kolostruma. Jagnje dobija kolostrum krava i odgaja se potpuno odvojeno od ovaca, odnosno inficiranog stada. Ovaj metod je uspešan u uspostavljanju stada slobodnog od infekcije (Lerondelle, Ouzrout, 1990) i od velike je koristi gde se zahteva očuvanje genetskog potencijala jedinki. Drugi metod je otkrivanje seropozitivnih životinja i njihovo odvajanje. Sve ovce i koze na farmi se godišnje testiraju, a seropozitivne životinje i njihovo potomstvo mlađe od jedne godine se odbacuju. Idealno je da budu zaklani, ali to nije ekonomski opravdano, i moraju se držati odvojeno od seronegativnih ovaca. Seronegativno stado mora da se drži izolovano od inficiranih ovaca, opreme i ljudi koji su bili u kontaktu sa inficiranim ovcama. Testiranje se nastavlja jedanputa godišnje dok se ne dobiju dva uzastopna negativna nalaza (Straub, 2004; Cutlip i sar., 1988). Uvođenje novih grla kod oba metoda treba da bude samo iz seronegativnog stada. Lečenje se ne primenjuje.

Bolest je značajna zbog šteta koje nastaju uginjavanjem, izdvajanjem obolelih i prinudnim klanjem, troškova ispitivanja i kontrole, kao i ograničavanja prometa. Činjenica da je infekcija sa MVV dokazana u populaciji ovaca ukazuje da se ovoj infekciji mora posveti određena pažnja.

LITERATURA

1. Jolly P.E., Narayan O.: Evidence for interference, coinfections, and intertypic virus enhancement of infection by ovine-caprine lentiviruses. *Journal of Virology*, 63, 11, 4682-4688, 1989.
2. Marcom K.A., Pearson L.D., Chung C.S., Poulson J.M., Demartini J.C.: Epitope analysis of capsid and matrix proteins of North American ovine lentivirus field isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 7, 1472-1479, 1991.
3. Cheevers W.P., McGuire T.C.: The lentiviruses: maedi/visna, caprine arthritis-encephalitis, and equine infectious anemia. *Adv. Virus Res.* 34, 189-215, 1988.
4. Straub O.C.: Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge: *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 27, 1, 1-5, Jan, 2004.
5. Cutlip R.C., Lehmkuhl H.D., Schmerr M.J.F., Brogden K.A.: Ovine progressive pneumonia (maedi-visna) in sheep, *Veterinary Microbiology*, 7, 3, 237-250, July 1988.
6. Berriatua E., Álvarez V., Extramiana B., González L., Daltabuit M., Juste R.: Transmission and control implications of seroconversion to Maedi-Visna virus

- in Basque dairy-sheep flocks, *Preventive Veterinary Medicine*, 60, 4, 265-279, 2003.
7. Ravazzolo A.P., Reischak D., Peterhans E., Zanoni R.: Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses from Southern Brazil, *Virus Research*, 79, 1-2, 117-123, 2001.
 8. Simard C., Morley R.S.: Seroprevalence of maedi-visna in Canadian sheep. *Can. J. Vet. Res.* 55, 269-273, 1991.
 9. Sihvonen L., Hirvelä-Koski V., Nuotio L., Kokkonen U.M.: Serological survey and epidemiological investigation of maedi-visna in sheep in Finland, *Veterinary Microbiology*, 65, 4, 265-270, 1999.
 10. Gjerset B., Jonassen C.M., Rimstad E.: Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations, *Virus Research*, 125, 2, 153-16, 2007.
 11. Lacerenza D., Giammarioli M., Grego E., Marini C., Profiti M., Rutili D., Rosati S.: Antibody response in sheep experimentally infected with different small ruminant lentivirus genotypes, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 112, 3-4, 264-27, 2006.
 12. Watt N.J., Roy D.J., McConnell I., King T.J.: A case of visna in the United Kingdom, *Veterinary Record* 126, 600-601, 1990.
 13. Christodouloupoulos G.: Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries, *Small Ruminant Research*, 62, 1-2, 7-53, 2006.
 14. Petursson G., Andesdottir V., Andresson O.S., et al.: Lentivirus diseases of sheep and goats: maedi-visna and caprine arthritis-encephalitis. In: Progress in sheep and goats research, ed. Speedy AW, London, UK: CAB International, 1992, ch. 5, pp. 109-129.
 15. Blacklaws B.A.: Transmission of small ruminant lentiviruses, *Veterinary Microbiology*, 101, 3, 199-208, 2004.
 16. Preziuso S., Renzoni G., Allen T.E., Taccini E., Rossi G., DeMartini J.C., Braca G.: Colostral transmission of maedi visna virus: sites of viral entry in lambs born from experimentally infected ewes, *Veterinary Microbiology*, 104, 3-4, 9, 157-164, 2004.
 17. Pritchard G.C., Done S.H., Dawson M.: Multiple cases of maedi and visna in a flock in East Anglia, *Veterinary Record* 154, 94, 1995.
 18. Pritchard, G.C., Done, S.H.: Concurrent maedi-visna virus infection, *Vet. Rec.* 127, 197-200, 1990.
 19. Benavides J., Fuertes M., García-Pariente C., Ferreras M.C., García Marín J.F., Pérez V.: Natural Cases of Visna in Sheep with Myelitis as the Sole Lesion in the Central Nervous System, *Journal of Comparative Pathology*, 134, 2-3, 219-230, 2006.
 20. Lerondelle C., Ouzrout R.: Expression of maedi-visna virus in mammary secretions of a seropositive ewe. *Dev. Biol. Stand.* 72, 223-227, 1990.

Arhiv veterinarske medicine, vol. 1, br. 1, 32-42, 2008.
Vidić, B. i dr.: Ispitivanje raširenosti maedi-visna ...

21. Pritchard G.C., Dawson M.: Maedi-visna. In: Diseases of Sheep, Martin W.B., Aitken I.D., eds. 3rd ed. Oxford: Blackwell Sci, 187–191, 2000.

Primljeno: 10. 08. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Promene osetljivosti *Escherichia coli* izolovane kod živine na antimikrobne lekove

Igor Stojanov^{*}, Dragica Stojanović, Radomir Ratajac,
Nada Plavša, Miloš Kapetanov

Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

U savremenoj živinarskoj proizvodnji postoji velika potreba za primenom antimikrobnih lekova. Njihova upotreba vezana je za terapiju, kada je pri pojavi bakterijske infekcije neophodno tretirati obolele životinje, ali se isto tako koriste i kao dodaci hrani koji imaju funkciju stimulisanja rasta i preveniranju bolesti. Predmet našeg istraživanja je praćenje osetljivosti *E. coli* na antibiotike. Cilj rada je da se utvrdi kakve su terapijske mogućnosti pojedinih grupa antibiotika na naše izolata *E. coli*, kako se kreće osetljivost sojeva na ispitivane preparate i kakva su perspektive u budućnosti. Kao materijal u radu su korišćeni izolati *E. coli* sa živinarskih farmi i privatnih proizvođača u periodu od tri godine. Obradeni uzorci su poreklom od različitih vrsta živinskih materijala. *E. coli* izolovana je korišćenjem hranljivih i selektivnih podloga, a determinisana određivanjem fizioloških karakteristika. Metodom disk difuzije određena je osetljivost na pojedine grupe antibiotika (aminoglikozidi, florhinoloni, tetraciklini, sintetski penicilini, sulfo preparati, linkozamini). Dobijeni rezultati ukazuju da se kod svih grupa antibiotika osetljivost smanjivala tokom tri posmatrane godine. Uočena otpornost doprinela je pojavi problema lečenja obolelih životinja i ukazala na postojanje realne opasnosti izbora lekova za neophodnu terapiju obolelih životinja. Ovakav nalaz mogao bi ukazati na činjenice da je došlo do promena u bakterijskoj flori (pojava sojeva otpornih na hemoterapeutike) ili pojavi mutacije, na ispitivanom području, kao i načina administriranja lekova i tehnološkim mogućnostima gajenja živine.

Ključne reči: *Escherichia coli*, antimikrobni lekovi, osetljivost, živina

^{*} e-mail: igor@niv.ns.ac.yu

Sensitivity of *Escherichia coli* strains isolated from poultry samples to antimicrobial drugs

Igor Stojanov*, Dragica Stojanović, Radomir Ratajac,
Nada Plavša, Miloš Kapetanov
Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

Antimicrobial drugs are necessary in modern poultry production. They are used in therapy as growth promoters and in prophylactic and therapeutical purposes.

The subject of our research is monitoring *E. coli* sensitivity to antibiotics. The aim of the work is to determine antimicrobial activity of some antibiotic groups on our *E. coli* isolates, to view therapeutical perspective of used antibiotics in future.

The material used in this work were the isolates of *E. coli* from extensive and intensive poultry breeding farms. Different poultry samples were examined (feces, eggs, 1 day old chickens etc.) using standard bacteriological procedures (cultivating, biochemical tests etc.). Sensitivity to antibiotics were determined using disc diffusion method. The following drug groups were examined: aminoglycosides, fluoroquinolones, tetracycline, synthetic penicilline, sulphonamide, lincosamides.

The obtained results point that in all antibiotic groups sensitivity decreased in the period of three years. Noticed resistance caused the problem in treatment of animals and indicated the problem in defining the drugs of choice in therapy. This could point on the fact that there is a change in bacterial flora (strains resistant on chemotherapeutical) or cases of mutation on the examined area as well as the administration route and technological possibilities of animal breeding.

Key words: *Escherichia coli*, antimicrobial drugs, sensitivity, poultry

UVOD

Infekcija živine sa *Escherichia coli* može biti lokalnog ili sistemskog karaktera. Pošto se radi o široko rasprostranjenom mikroorganizmu, čije je prisustvo neophodno za normalno funkcionisanje gastrointestinalnog trakta, važno je znati da li se pri pojavi infekcije sa *E. coli* radi o primarnom ili sekundarnom uticaju ove bakterije. Kod primarne infekcije, obligatno patogenim sojem *E. coli*, upotreba antimikrobnih lekova je neophodna, dok je kod sekundarnih infekcija često važnije ukloniti primarni faktor, a lekovi imaju funkciju podrške imunološkom sistemu.

U oba slučaja neophodna je primena antimikrobnih lekova i moguće je, neadekvatnom terapijom, uticati na pojavu razvoja rezistencije sojeva na upotrebljene preparate. U veterinarskoj praksi, u stočarskoj proizvodnji, primena antimikrobnih lekova nije vezana samo za lečenje životinja, već i za preventivu, odnosno za sprečavanje pojave infekcije životinja ili kao stimulansa rasta koji doprinosi poboljšanju intenziteta proizvodnje.

Prema podacima iz literature u Evropi se godišnje troši oko 10.000 tona antibiotika. Od toga polovina ili oko 5.000 tona se koristi u veterinarskoj medicini (oko 3.500 tona u terapiji i oko 1.500 tona kao promotera rasta), a drugih 5.000 tona u humanoj medicini (Kümmerer, 2001).

Antimikrobni lekovi su supstance koje su veoma raznolike po strukturi i načinu delovanja. Njihov uticaj na bakterijske uzročnike bolesti vezan je za inhibitorno ili letalno dejstvo. Oni su proizvodi metabolizma različitih mikroorganizama ili viših biljaka. Podaci iz literature ukazuju da se pored spomenutih načina dobijanja, antibiotici mogu dobiti i biosintezom ili sintetičkim putem. Danas se u stručnoj javnosti koristi naziv antibiotici koji kao pojam obuhvata sve vrste mikrobiostatskih i mikrobiocidnih supstanci bez obzira na poreklo njihovog dobijanja. Tehnološki razvoj omogućuje da se nekadašnji način dobijanja antimikrobnih lekova kao proizvoda metabolizma mikroorganizama zameni različitim vrstama sinteze čime se dobijaju supstance koje imaju iste karakteristike (Prostran i Kažić, 1997).

Upotreba antimikrobnih lekova podrazumeva njihovo stručno i svrsishodno korišćenje. Činjenica je da danas neophodnu upotrebu antibiotika ograničava pojava rezistencije koja predstavlja otpornost mikroorganizama na jedan ili više antibiotika, čime se u značajnoj meri smanjuje ili u potpunosti onemogućava korišćenje ovih preparata.

Jedna od podela antimikrobnih preparata, s obzirom na mehanizme delovanja na mikroorganizme, sistematizuje antibiotike na sledeći način: a) inhibicija sinteze ćelijskog zida (penicilini, cefalosporini, cefamicin, vankomicin, bacitracin), b) oštećenje i slabljenje funkcije ćelijske membrane (polimiksin B, kolistin, amfotericin, nistatin), c) inhibicija sinteze proteina (tetraciklini, aminoglikozidi, spektinomycin, hloramfenikol, makrolidi, linkozamidi), d) inhibicija replikacije i sinteze DNK (kvinoloni, novobiocin, griseofulvin), e) inhibicija funkcije RNK polimeraze od koje zavisi DNK (rifamicin), f) inhibicija folne kiseline sinteze DNK (sulfonamidi, trimetoprim) (Prostran i Kažić, 1997).

Terapija koja je neophodna u svim slučajevima kada se laboratorijski nalaz *E. coli* nadoveže na klinička ispitivanja i patomorfološki nalaz, može u slučaju neadekvatnog lečenja ili prevencije dovesti do pojave rezistencije koja otežava lečenje samih životinja, ali isto tako i ljudi inficiranih ovim mikroorganizmom.

Iz tih razloga predmet našeg istraživanja je praćenje osetljivosti *E. coli* na antibiotike u trogodišnjem periodu. Cilj rada je da se utvrdi kakvo je dejstvo pojedinih grupa antibiotika na izolovane sojeve *E. coli*, kako se kreće osetljivost sojeva na ispitivane preparate i kakva su tendencije u perspektivi.

MATERIJAL I METODE RADA

Kao materijal za ispitivanje u radu su korišćeni izolati *E. coli* sa živinarskih farmi koje imaju savremen način proizvodnje kao i od malih proizvođača sa ekstenzivnim načinom gajenja živine. Uzorci koji su analizirani bili su poreklom od različitih vrsta materijala (jetra, creva, žumančana kesa, pluća, srce, slezina, feces, prostirka, pelene). Prema patomorfološkom nalazu uginulih životinja uzorci koji su obrađeni imali su u jednom delu anamnestičke podatke koji su ukazivali na sumnju da se radi o kolibacilozi, ali isto tako *E. coli* je izolovan i iz materijala čiji klinički i patomorfološki nalaz nije ukazivao da je reč o toj vrsti infekcije.

Escherichia coli je izolovana uz pomoć hranljivih i selektivnih podloga. Doneti materijali su direktno, ezom, zasejavani na krvni i MacConkey agar. Posle inkubacije od 24-48 časova na 37°C, Gram i oksidaza negativni, laktoza pozitivni mikroorganizmi sa fermentativnim osobinama, determinisani su određivanjem fizioloških karakteristika (Quinn i sar., 2002).

Utvrđivanje osetljivosti prema antibioticima urađeno je disk difuzionim metodom u odnosu na pojedine grupe hemoterapeutika (aminoglikozidi, florhinoloni, tetraciklini, sintetski penicilini, sulfo preparati, linkozamini). Antibiotogrami su pravljeni na Mueller-Hinton agaru na koje je nanošena suspenzija gustine 0,5 McFarlanda. Suspenzija je sterilnim brisom razmazana po celoj podlozi na koju su stavljeni antibiotski diskovi i inkubirana je 18-24 časa na 37°C (prema CLSI).

Posle inkubacije zasejanih podloge, koje su korišćene za određivanje osetljivosti izolata *Escherichia coli*, merene su zone inhibicije (u milimetrima) oko postavljenih antibiotskih diskova. U zavisnosti kolika je bila zona inhibicije rasta ispitujućeg mikroorganizma davana je, prema uputstvu proizvođača diskova, opisna ocena delovanja antibiotika osetljiv (O), intermedijaran (I) i rezistentan (R).

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

U tabeli 1 se nalaze podaci ispitivanja osetljivosti izolovanih sojeva *E. coli* prema antimikrobnim preparatima. Dobijeni rezultati ukazuju da je ukupna osetljivost izolata prema svim ispitanim lekovima u 2003. bila smanjena u odnosu na 2002. godinu, ali da se povećala u 2004. Isto tako može se videti da je osetljivost sojeva bila manja u 2004. u odnosu na 2002. godinu kada se uzme u obzir smanjenje osetljivosti izolata jer je povećan procenat intermedijarnog (I) dejstva lekova.

Svi ispitani sojevi *E. coli* karakterišu se značajnom otpornošću, odnosno manjom osetljivošću na gotovo sve ispitivane antibiotike (aminoglikozidi, sintetski penicilini, linkomicini, tetraciklini, florhinoloni). Ovakvi rezultati ukazuju na moguću pojavu problema prilikom izbora leka za lečenje obolelih životinja. Sa jedne strane smanjuje se broj antimikrobnih lekova koji imaju baktericidno ili bakteriostatsko dejstvo, a sa druge strane smanjuje se osetljivost izolata na antibiotike što u perspektivi može dovesti do potpune rezistencije.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja osetljivosti izolovanih sojeva *E. coli* na antibiotike

		Osetljivost izolata						
God.	Vrsta antibiotika	R – rezistentno		I – intermedijarno		S – senzitivno		Uk. br. izolata
		Br. izoalta	%*	Br. izoalta	%*	Br. izoalta	%*	
AMINOGLIKOZIDI								
2002.	Streptomic. 10 mg ¹	49	87,5	7	12,5	-	-	56
2003.	Streptomic. 10 mg	50	94,34	3	5,66	-	-	53
2004.	Streptomic. 10 mg	45	80,36	10	17,86	1	1,79	56
2002.	Gentamicin 10 mg	16	28,57	32	57,14	8	14,29	56
2003.	Gentamicin 10 mg	30	56,60	18	33,96	5	9,43	53
2004.	Gentamicin 10 mg	18	32,14	29	51,79	9	16,07	56
2002.	Neomicin 30 mg	12	21,43	30	53,57	14	25	56
2003.	Neomicin 30 mg	25	47,17	25	47,17	3	5,66	53
2004.	Neomicin 30 mg	29	51,79	20	35,71	7	12,5	56
SIN. PENICILINI								
2002.	Ampicilin 10 mg	37	66,07	17	30,36	2	3,57	56
2003.	Ampicilin 10 mg	46	86,79	7	13,20	-	-	53
2004.	Ampicilin 10 mg	47	83,93	9	16,07	-	-	56
2002.	Amoksicilin 25 mg	46	82,14	9	16,07	1	1,79	56
2003.	Amoksicilin 25 mg	50	94,34	3	5,66	-	-	53
2004.	Amoksicilin 25 mg	49	87,5	5	8,93	2	3,57	56
LINKOMICINI								
2002.	Linkomicin 15 mg	46	82,14	10	17,86	-	-	56
2003.	Linkomicin 15 mg	50	94,34	3	5,66	-	-	53
2004.	Linkomicin 15 mg	51	91,07	3	5,35	2	3,57	56
2002.	Linko-spektin 15 + 200 mg	27	48,21	26	46,43	3	5,35	56
2003.	Linko-spektin 15 + 200 mg	36	67,92	16	30,19	1	1,89	53
2004.	Linko-spektin 15 + 200 mg	39	69,64	15	26,79	2	3,57	56
FLORHINOLONI								
2002.	Enrofloksacin 5 mg	9	16,07	17	30,36	30	53,57	56
2003.	Enrofloksacin 5 mg	23	43,40	26	49,06	4	7,55	53
2004.	Enrofloksacin 5 mg	21	37,5	13	23,21	22	39,26	56
2002.	Norfloksacin 10 mg	26	46,43	14	25	16	28,57	56
2003.	Norfloksacin 10 mg	28	52,83	18	33,96	7	13,20	53
2004.	Norfloksacin 10 mg	23	41,07	18	32,14	15	26,79	56
TERACIKLINI								
2002.	Tetraciklin 30 mg	51	91,07	4	7,14	1	1,79	56
2003.	Tetraciklin 30 mg	46	86,79	7	13,20	-	-	53
2004.	Tetraciklin 30mg	46	82,14	9	16,07	1	1,79	56

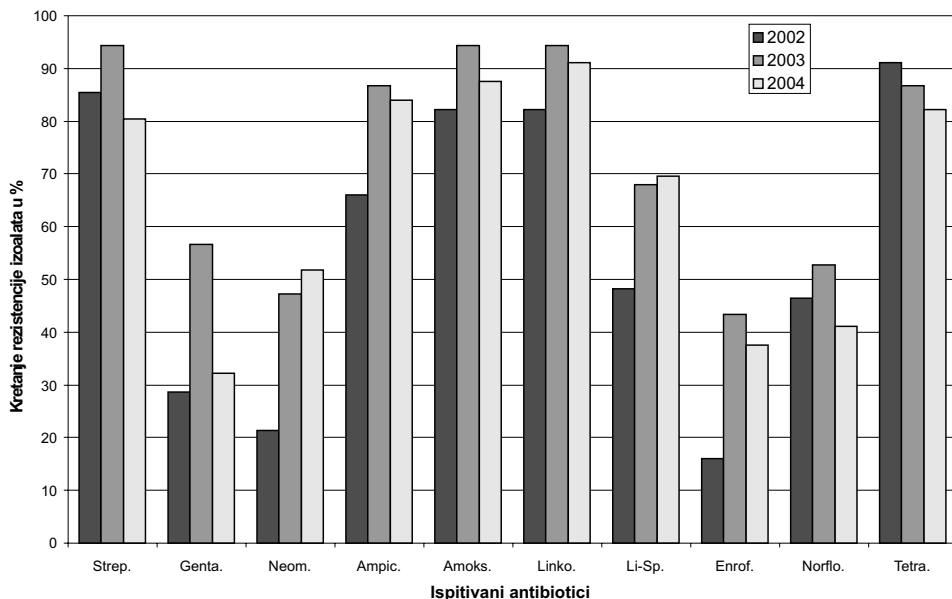
¹ količina aktivne supstance po disku

*% od ukupnog broja izolata

Problem pojave rezistencije više patogenih bakterija ispitivan je u radu (Sigrid i sar., 2004) gde je utvrđeno da 54% izolata *E. coli* pokazuje rezistenciju na više od jednog antibiotika. Osetljivost je ispitana na tetracikline, ampicilin, gentamicin, kanamicin, sulfonamide, nalidiksičnu kiselinu i streptomycin. Molekularnim metodama je utvrđeno prisustvo gena odgovornih za multirezistenciju izolata. Naše ispitivanje je, slično spomenutim nalazima, pokazalo prisutnu multirezistenciju u visokom stepenu.

Slične rezultate dobili su autori (Zhao i sar., 2005) u svojim ispitivanjima gde je uočeno da je 86% izolata *E. coli* bilo rezistentno na streptomycin (u našem ispitivanju za 2002. 87,5% rezistentnih sojeva, 2003. godine 94,34% rezistentnih sojeva i 2004. god. 80,36%). Na tetracikline 87% izolata je pokazalo rezistenciju (kod nas oko 90%). Slično našem istraživanju u radu je utvrđeno da je prisutna multirezistencija sojeva i da je 91,58% sojeva bilo rezistentno na 3 i više antibiotika, da je 70,53% sojeva bilo otporno na 5 i više antibiotika, a da je 31,58% multirezistentno na 8 i više antibiotika. U radu je molekularnim metodama utvrđeno prisustvo gena koji su nosioci multirezistencije i utvrđena je njihova distribucija u odnosu na sojeve.

Grafikon 1. Procentualni prikaz rezistenih sojeva *E. coli* tokom tri godine



U grafikonu 1. se može videti kako se kretala rezistencija izolata prema ispitivanim antibioticima tokom tri godine. Može se videti da je samo kod neomicina došlo do povećanje rezistencije tokom sve tri godine, dok je kod tetraciklina došlo do smanjenja ove pojave. Svi ostali ispitivani lekovi nisu imali trend smanjenja ili povećanja rezistencije, već su pokazali varijabilnost. Primena molekularnih metoda mogla bi dati odgovor da li su razlozi ovoj pojavi prisustvo novih sojeva, koji su

naselili epizootiološko područje sa kog su uzimani uzorci ili je u pitanju promena genoma izazvana mutacijama.

Značaj prisustva pojedinih gena za pojavu rezistencije i njeno praćenje saopšteno je u radu (Cernat i sar., 2005) gde je opisano da kod sojeva *E. coli* koji su rezistentni na amoksicilin samo u 40% slučajeva može da se utvrdi prisustvo gena koji su nosioci ove karakteristike. Zaključili su da prisustvo i prenošenje rezistencije *E. coli* na amoksicilin zavisi i od drugih delova genoma. Sličan problem izneli su autori u svom radu (Srinivasan i sar., 2007) gde je utvrđeno da višestruka rezistencija nije obavezno vezana za gene koji su odgovorni za rezistenciju *E. coli* za određeni antimikrobni lek. U njihovim ispitivanjima oko 20% izolovanih *E. coli* bilo je otporno na sulfo preparate, ali nisu u svom genomu imali gene koji nose ovu vrstu rezistencije. Suprotno ovoj pojavi sojevi *E. coli* koji su pokazivali osetljivost na tetracikline nosili su gene koji su odgovorni za pojavu rezistencije na ovaj antibiotik.

Ispitivanje osetljivosti izolata *E. coli* izolovanog iz stočne hrane i namirnica animalnog porekla kako je saopšteno (Martins Da Costa i sar., 2007) pokazalo je da je 27,7% izolata rezistentno na tetraciklin, 22,9% na ampicilin, 19,0% na streptomycin a na ostale ispitivane antibiotike rezistencija je bila manja od 15%. Od ukupnog broja ispitivanih sojeva 67,7% bilo je osetljivo na ispitivane preparate. Nalaz rezistentnih sojeva *E. coli* u analiziranim materijalima ukazuje na mogućnost prenošenje rezistencije putem hrane na ljude i životinje sojevima koji nose ovakve karakteristike.

Poseban problem predstavlja pojava rezistencije sojeva na enrofloksacin. Ovakav zaključak se može izvesti iz podataka da su antimikrobni lekovi na bazi flor hinolona lekovi koji predstavljaju lek izbora kako u veterini tako i u humanoj medicini (Mitchell, 2006; Sumano i sar., 2003). Naše istraživanje je pokazalo da se rezistencija enrofloksacina i norfloksacina kretala od 16,07-52,83%. Istraživanja drugih autora (Antunes i sar., 2003) pokazuju prisustvo rezistencije salmonela u odnosu na enrofloksacin i nalidiksičnu kiseline koja je iznosila 50% od ukupno ispitanih izolata. U istom istraživanju se ukazuje da nekontrolisana upotreba antimikrobnih lekova u stočnoj hrani, kao promotera rasta, doprinosi razvoju rezistencije.

Rezistencija koliformne flore digestivnog trakta svinja veoma brzo se razvija posle tretmana flor kvinolonima (Wiuff i sar., 2003). Posle 1-2 dana od tretmana sa enrofloksacinom u preporučenim dozama, koliformnom florom u potpunosti dominiraju rezistentni fenotipovi ovih bakterija koji su perzistirali u visokom procentu u naredne dve nedelje.

E. coli predstavlja bakteriju koja pripada zoonozama uključujući i mogućnost transfera rezistentnih antimikrobnih sojeva na ljude preko namirnica animalnog porekla. U radu Petersen i sar. (2006) ispitivana je mogućnost vertikalnog prenošenja rezistentnih sojeva sa roditeljskih jata na brojlerne. U Danskoj je utvrđeno da je enrofloksacin rezistentne sojeve *E. coli* moguće preneti vertikalnim putem na brojlerne, jer su se oni izlučivali na različite načine u proizvodnim objektima. Na ovaj način rezistentni sojevi mogu doći i u kontakt sa ljudima čime se može ugroziti mogućnost korišćenja flokvinolona u terapijske svrhe.

ZAKLJUČAK

Ispitivanja osetljivosti sojeva *Escherichia coli* izolovanih iz materijala poreklom od živine pokazala su značajnu rezistenciju prema antimikrobnim lekovima. Poseban problem predstavlja pojava višestruke rezistencije, jer ona smanjuje mogućnost primene i izbora antibiotika. Pored toga ona otvara potrebu za upotrebom novih antibiotskih supstanci koji bi zamenili postojeću paletu antibiotika.

Praćenje i kontrolisanje antibiotske rezistencije nije moguća bez molekularnih metoda. Zbog toga je neophodno obezbediti uslove za laboratorijska ispitivanja ove vrste, koji bi omogućila da se na našem epizootiološkom području obezbediti sveobuhvatno praćenje pojave smanjene osetljivosti mikroorganizma na antibiotike. Nalazi iz 2004. godine koji su pokazali da se osetljivost izolata na antibiotike povećala, može da se objasni pojavom novih sojeva *E. coli* koji su bili manje izloženi antibioticima tako da su ispitivani antibiotici pokazali bolju efikasnost. Ovakva razmišljanja bi mogla da se provere primenom molekularnih metoda koje bi empirijski potvrdila da li se radi o novim sojevima ili ne.

LITERATURA

1. Antunes P., Cristina R., Joao Carlos S., Peixe L., Nazare P.: Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents, *International Journal of Food Microbiology*, 82, 97– 103, 2003.
2. Cernat R., Balotescu C., Ivanescu D., Nedelcu D., Lazar V., Bucur M., Valeanu D., Tudorache R., Mitache M., Dragoescu M.: Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains isolated from drinking and recreational, salmaster waters, *17 th ECCMID/25th ICC*, S274. 2005.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performans Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard – Ninth Edition. CLSI document M2-A9. Pennsylvania, USA, 2006.
4. Kümmerer K.: Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review, *Chemosphere*, 45 957-969, 2001.
5. Mitchell A. M.: Enrofloxacin, Therapeutic Review, *Journal of Exotic Pet Medicine*, 15, 1, 66-69, (January), 2006.
6. Martins Da Costa P., Manuela O., 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.
7. Mayrhofer S., Paulsen P., Smulders F.J.M., Hilbert F.: Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry, *International Journal of Food Microbiology*, 97, 23-29, 2004.
8. Quinn J. P., Carter E. M., Markey B., Carter R.G.: Clinical Veterinary Microbiology and Disease; London, Philadelphia, St. Luis, Sydney, Tokyo: Mosby, 2002.

9. Petersen A., Christensen J. P., Kuhnert P., Bisgaard M., Olsen J.E.: Vertical transmission of a fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* within an integrated broiler operation, *Veterinary Microbiology*, 116, 120–128, 2006.
10. Prostran M., Kažić T.: Antibiotici – racionalna primena, Beograd: Farmakoterapijska sekcija SLD, Sekcija za kliničku farmakologiju DFJ, 1997.
11. Srinivasan V., Gillespie B. E., Lewis M. J., Nguyen L.T., Headrick S. I., Schukken Y. H., Oliver S.P.: Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis, *Veterinary Microbiology*, 124, 319-328, 2007.
12. Sumano H. L., Gutierrez O. L., Zamora Q. M.: Strategic Administration of Enrofloxacin in Poultry to Achieve Higher Maximal Serum Concentrations, *The Veterinary Journal*, 165, (2), 143–148, 2003.
13. Wiuff C., Lykkesfeldt J., Svendsen O., Aarestrup F.M.: The effects of oral and intramuscular administration and dose escalation of enrofloxacin on the selection of quinolone resistance among *Salmonella* and *coli* forms in pigs, *Research in Veterinary Science*, 75, 185–193, 2003.
14. Shaohua Z., Maurer J. J., Hubert S., De Villena J. F., McDermott P.F., Meng J., Ayres S., English L., White D. G.: Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates, *Veterinary Microbiology*, 107, 215-224, 2005.

Primljeno: 13. 08. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Osetljivost *Salmonella* Enteritidis na odabrane aktivne sastojke eteričnih ulja u uslovima *in vitro*

Radomir Ratajac^{1*}, Dragica Stojanović¹, Milanka Jezdimirović²,
Branislav Lako³, Dušan Orlić¹, Igor Stojanov¹
¹Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad, Novi Sad
²Fakultet za veterinarsku medicinu, Beograd
³Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Kratak sadržaj

Preventiva i terapija infektivnih bolesti životinja, naročito zoonoza, je neophodna uprkos unapređenju tehnike proizvodnje i higijene klanja, a bezbednost hrane je značajan parametar za zdravlje ljudi. Upotreba antibakterijskih lekova nosi sa sobom opasnosti kao što su razvoj rezistentnih sojeva bakterija na pojedine antibiotike, naročito onih koji su zajednički za primenu kod životinja i ljudi, i njihovih rezidua u životinjskim namirnicama. Mogući alternativni prilaz ovoj terapiji je primena eteričnih biljnih ulja koja ispoljavaju antimikrobno delovanje. Cilj rada je bio da se ispita antimikrobna aktivnost eugenola, cinamaldehida, timola i karvakrola primenjenih pojedinačno ili u međusobnim kombinacijama protiv *Salmonella* Enteritidis u *in vitro* uslovima. Izbor bakterije je izvršen prema značaju njenog prisustva u namirnicama za ljudsku ishranu, odnosno činjenice da se prenosi sa životinja na ljude. Antibakterijski potencijal odabranih aktivnih sastojaka eteričnih ulja, kao i njihovih kombinacija protiv izolovanog soja *Salmonella* Enteritidis (iz biološkog materijala poreklom od živine) dobijen je određivanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) agar dilucionim testom. Dobijeni rezultati pokazuju da je MIK eugenola (određen agar dilucionom metodom), kao i kombinacije eugenola sa cinamaldehydom (2:1) za ovaj serotip salmonela iznosila je 0,625 µl/ml. Cinamaldehyd i smeša timola i karvakrola (1:1) su u manjoj koncentraciji, 0,312 µl/ml podloge, zaustavile razmnožavanje *S. Enteritidis*. Najjaču antibakterijsku aktivnost imali su timol i karvakrol, a njihov MIK je bio 0,156 mg/ml, odnosno µl/ml. Na osnovu izvršenih *in vitro* ispitivanja, možemo se zaključiti da testirana eterična ulja delimično ili potpuno zaustavljaju razmnožavanje *S. Enteritidis*, te se mogu koristiti kao antibakterijski fitofarmaci u veterinarskoj medicini.

Ključne reči: pilići, *Salmonella*, eterična ulja, rezistencija

* e-mail: rataiac@niv.ns.ac.yu

Sensitivity of *Salmonella Enteritidis* to selected active constituents of essential oils in *in vitro* conditions

Radomir Ratajac^{1*}, Dragica Stojanović¹, Milanka Jezdimirović²,
Branislav Lako³, Dušan Orlić¹, Igor Stojanov¹

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad

²Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade

³Faculty of Agriculture, Novi Sad

Abstract

In spite of modern improvements in slaughter hygiene and food production techniques, prevention and therapy of infective animal diseases, especially zoonosis, is necessary because food safety has been an increasingly important public health issue. Using chemotherapeutic drugs against pathogen microorganisms raises the possibility of developing resistance of bacteria (common for animals and humans) to certain drugs. Another important issue is presence of drug residues in food of animal origin. The use of essential oils (EOs) is a possible alternative to synthetic drugs, because of their antibacterial effect. The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity of essential oils – eugenol, cinnamaldehyde, thymol and carvacrol, individually as well as when combined, against field strain *Salmonella enterica* subspecies *enterica*, serotype Enteritidis (SE/*in vitro* conditions). Determining antimicrobial potential of essential oils, as well as their combinations against the strain of SE (biological material originating from poultry), was carried out through determining minimal inhibitory concentration (MIC) using agar dilution test. MIC (determined by agar dilution method) of eugenol, and combination of eugenol and cinnamaldehyde (2:1) was 0.625 µl/ml. Cinnamaldehyde and mixture of thymol and carvacrol (1:1) resulted in growth inhibition of SE at 0.312 µl/ml medium. Thymol and carvacrol had the best antibacterial activity and their MIC was 0.156 mg/ml, i.e. µl/ml. It can be concluded that the selected EOs partly or totally inhibited growth of SE and that they can be used in veterinary medicine, possibly as phytopharmaceuticals.

Key words: chickens, *Salmonella*, ethereal oil, resistance

UVOD

Antibiotici imaju veliki značaj u humanoj i veterinarskoj medicini. Koriste se za lečenje različitih bolesti ljudi i životinja, kao i za povećanje produktivnih

karakteristika kod farmških životinja. Međutim, upotreba antibiotika u borbi sa patogenim mikroorganizmima nosi sa sobom i opasnosti, kao što su razvoj rezistentnih sojeva bakterija, poremećaj normalne bakterijske flore i mogućnost nastajanja superinfekcije, pojavu preosetljivosti na lek i drugih toksičnih reakcija, i to vrlo često kao posledica nepravilne primene. Rezistencija na pojedine antibiotike, kao i postojanje rezidua antibiotika u namirnicama životinjskog porekla posle neadekvatne primene i nepoštovanja karence za lekove, su pitanja koja su se u poslednjoj dekadi dvadesetog veka nametnula kao primarni problem u ovoj oblasti. Uprkos savremenom unapređenju higijene klanja i tehnike proizvodnje, kontrola (preventiva i terapija) infektivnih bolesti životinja, naročito zoonoza, neophodna je i sa aspekta bezbednosti hrane. Naime, procenjeno je da u industrijskim zemljama svake godine od bolesti koje se prenose putem hrane (namirnice animalnog porekla) oboli oko 30% ljudi, a da je 2000. godine bar 2 miliona ljudi širom sveta umrlo od dijareje (WHO, 2002a).

Kao jedna od mogućih alternativa sintetskim lekovima jeste upotreba eteričnih ulja. Odavno je primećeno da neka eterična ulja imaju antimikrobna svojstva o čemu se u prošlosti razmatralo, ali je nedavno povećanje zainteresovanosti za „zeleno” konzumiranje obnovilo interes u nauci za ove supstance. Osim antibakterijskih svojstava (Mourey i Canillac, 2002), eterična ulja ili njihovi sastojci su pokazali antivirusno (Bishop, 1995), antimikotično (Jayashree i Subramanyam, 1999, Mari i sar., 2003), antitoksično (Ultee i Smid, 2001; Juglal i sar., 2002), antiparazitsko (Pandey i sar., 2000; Pessoa i sar., 2002) i insekticidno svojstvo (Karpouhtsis et al., 1998). Smatra se da su ove karakteristike povezane sa funkcijom ovih jedinjenja u biljkama (Mahmoud i Croteau, 2002). Zbog prethodno navedenog, postavili smo zadatak da ispitamo antimikrobno dejstvo eugenola, cinamaldehida, timola i karvakrola, kao i njihovih kombinacija na *Salmonella* Enteritidis u *in vitro* uslovima.

MATERIJAL I METOD RAD

Ispitivanje osetljivosti izolovanog soja *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotip Enteritidis iz uzoraka tkiva jetre i creva leševa živine – brojlera pred klanje poreklom sa farme iz Gospodinaca i referentnog soja *Salmonella* Enteritidis (ATSS 13076, proizvođača MicroBioLogics) na antibakterijska sredstva urađeno je primenom dilucione metode u agaru, uz određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIK). Prilikom izvođenja ove metode od posebne je važnosti standardizacija inokuluma, a izvedena je iz kultura bakterija stare 24 sata, primenom metode spektrofotometra na talasnoj dužini od 625 nm. Posle pripreme inicijalne suspenzije bakterija gustine O.D. 0,08-0,10, finalni inokulum se pripremao razblaživanjem sa Mueller-Hinton bujonom u odnosu 1:100, radi dobijanja koncentracije od $1-2 \times 10^6$ bakterija u ml, odnosno 10^4 bakterija u 10 μ l.

Osnovni rastvori eteričnih ulja pripremani su rastvaranjem standarda, eugenola (99,8%, Eramex Aromatics GmbH, Nemačka), cinamaldehida (98,9%, Eramex Aromatics GmbH, Nemačka), timola (99,9%, Eramex Aromatics GmbH, Nemačka),

karvakrola (Essentico, Kula) i njihovih kombinacija eugenola i cinam-aldehida (2:1) i timola i karvakrola (1:1) u odgovarajućem rastvaraču – propilen glikolu. U ukupnoj količini od 10 ml osnovnog rastvora, koncentracija aktivne supstance je bila 100 µl (mg) u mililitru rastvora. Radni rastvori su pripremani neposredno pre upotrebe rastvaranjem odgovarajuće količine osnovnog rastvora u propilen glikolu. Dilucioni antibiogram je izveden tako što je napravljena serija koncentracija: 0,0195, 0,0391, 0,0781, 0,1563, 0,3125, 0,625, 1,25, 2,5 i 5 µl/ml.

Ispitivanje osetljivosti bakterija na antimikrobna sredstva primenom dilucione metode u agaru izvedeno je u sterilnim plastičnim Petri šoljama prečnika 90 mm. U epruvete koje služe kao kontrola rasta sipano je 2 ml sterilne destilovane vode, a u ostale epruvete po 2 ml svakog razblaženja antimikrobnih sredstva, od najniže do najviše koncentracije. Zatim se u epruvete dodavalo po 18 ml rastopljenog Mueller Hinton agara (Torlak, Beograd) i nakon lagane homogenizacije se sadržaj epruveta razlivao u Petri šolje koje su prosušene u termostatu na temperaturi od 35-37°C u trajanju od 30 minuta. U podloge sa inkorporisanim antimikrobnim sredstvima inokulisano je po 10 µl prethodno standardizovane suspenzije bakterija.

Posle inkubiranja inokulisanih Mueller Hinton agara u termostatu na temperaturi od 35 do 37°C u trajanju od 18 časova, pristupilo se očitavanju rezultata.

REZULTATI I DISKUSIJA

Salmonella enterica subspecies *enterica* serotip Enteritidis je potvrđena na osnovu sledećih dijagnostičkih kriterijuma: karakterističnog izgleda kolonija na selektivno diferencijalnim podlogama, bazičnih biohemijskih parametara i pozitivnog testa aglutinacije sa poly S serumom (za sve grupe), sa grupno specifičnim serumom za grupu D₁, sa serumima za somatske antigene 9 i 12 i serumima za flagelarne antigene faza 1 (g, m).

Dobijene vrednosti minimalnih inhibitornih koncentracija eteričnih ulja prema ispitanim sojevima bakterija primenom dilucione metode u agaru prikazane su u tabeli br 1.

Tabela br. 1 Prikaz minimalnih inhibitornih koncentracija (MIK) ispitivanih eteričnih ulja na izolat i referentni soj *Salmonella* Enteritidis

Aktivna supstanca	Količina aktivne supstance u podlozi µl /ml podloge									
	Kontrola	5	2,5	7,25	0,625	0,312	0,156	0,078	0,039	0,02
eugenol	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
cinam-aldehid	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
eugenol + cinamaldehyd	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
timol	+	-	.	-	-	-	-	+	+	+
	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+

karvakrol	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
timol + karvakrol	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+

* + ima porasta kolonija; – nema porasta kolonija

– rezultati za referentni soj *Salmonella* Enteritidis

Minimalna inhibitorna koncentracija eugenola, kao i kombinacije eugenola sa cinamaldehydom, iznosila je 0,625 $\mu\text{l/ml}$. Cinamaldehyd i smeša timola i karvakrola su u manjoj koncentraciji (0,312 $\mu\text{l/ml}$ podloge) doveli do inhibicije rasta bakterija. Najbolju antibakterijsku aktivnost pokazali su timol i karvakrol čiji je MIK bio 0,156 $\mu\text{l/ml}$. Koncentracije eteričnih ulja, napred navedene, takođe su dovele i do inhibicije rasta kolonija referentnog soja *S. Enteritidis*, što ukazuje da je osetljivost izolovanog i referentnog soja salmonele identična prema eteričnim uljima, kako pojedinačno tako i prema njihovim kombinacijama. Osetljivost izolata *Salmonella* Enteritidis u *in vitro* uslovima na ispitivane aktivne supstance eteričnih ulja, kao i njihove kombinacije, bila je očekivana, pošto ranija istraživanja ukazuju da su salmonela vrste (*Salmonella* spp.) osetljive na fenolna i aldehidna jedinjenja eteričnih ulja. *Salmonella* Enteritidis je najčešće izolovan serotip *Salmonella enterica* iz materijala poreklom od živine (Stojanov i sar., 2004).

U našim eksperimentima najbolju antibakterijsku aktivnost pokazali su timol i karvakrol čije su MIK vrednosti bile 0,156 mg/ml, odnosno $\mu\text{l/ml}$. Do sličnih rezultata su došli Olasupo i sar. (2003) koji su takođe ispitivali MIK vrednosti eteričnih ulja prema *Salmonella* spp. Najbolju antimikrobnu aktivnost je imao timol, čije su MIK vrednosti iznosile 1,0 mmol l^{-1} , odnosno 0,1502 mg/ml, dok su MIK vrednosti za karvakrol bile 1,0 mmol l^{-1} (0,137mg/ml) i eugenol 3,0 mmol l^{-1} (0,492 mg/ml). Shang-Tzen i sar. (2001) ispitivali su antibakterijsku aktivnost eteričnih ulja poreklom iz listova dva klona *Cinnamomum osmophloeum* (klon A i B), koristeći agar dilucionu metodu. Koncentracije svakog testiranog sastojka, inkorporisanog u Muller – Hinton agar, bile su 100, 250, 500 i 1000 $\mu\text{l/ml}$. Korišćeno je devet sojeva bakterija uključujući i *Salmonella* spp. Dobijeni rezultati ukazuju da su eterična ulja iz listova cinamona B imala bolji inhibitorni efekat, pri čemu su MIK vrednosti protiv *Salmonella* sp. bile 500 $\mu\text{g/ml}$. U odnosu na ostale sastojke eteričnog ulja klona B, cinamaldehyd je imao najjaču antibakterijsku aktivnost (500 $\mu\text{g/ml}$), što je u korelacija sa MIK vrednostima dobijenim u našim eksperimentima (0,312 $\mu\text{l/ml}$).

Do sličnih rezultata su došli Nazer i sar. (2005) ispitujući inhibitorni efekat pet aktivnih supstanci eteričnih ulja (timola, karvakrola, citrala, eugenola i geraniola) i četiri organske kiseline, pojedinačno i u različitim kombinacijama protiv *Salmonella* Typhimurium. Određene su MIK vrednosti za devet antimikrobnih sastojaka, posle 72 sata inkubacije. Timol i karvakrol su imali najbolju antimikrobnu aktivnost, a njihove MIK vrednosti su bile 1,0 mmol l^{-1} , odnosno 0,150 mg/ml i 0,137 mg/ml, dok su MIK vrednosti za eugenol bile 3,2 mmol l^{-1} , odnosno 0,525 mg/ml. Ispitujući inhibitorni efekat aromatičnih supstanci u kombinacijama i koristeći kompletan

faktorijski dizajn 2^5 (5 aromatičnih komponenti na 2 nivoa), koji omogućava procenu glavnog efekta (za svaku komponentu) i efekte međusobnih interakcija (dvojnih, trojnih, ...), isti autori su došli do zaključka da su efekti pojedinačnih komponenti u smešama predominantni u odnosu na efekte samih interakcija. Najbolju efikasnost je pokazao timol u prisustvu drugih supstanci, tako da je njegovo dodavanje u maloj količini smešama eteričnih ulja mnogo efikasnije, nego dodavanje neke druge komponente. Dobru efikasnost su pokazali i citral, karvakrol i geraniol, dok je efikasnost eugenola znatno niža, što ukazuje da je njegovo dodavanje u smeše manje korisno. Autori su zaključili da upotreba kombinacija eteričnih ulja može biti interesantna sa aspekta smanjivanja doza, ali stvarni sinergistički efekat između komponenti nije utvrđen. Takođe, rezultati ispitivanja naših kombinacija antimikrobnih aktivnih sastojaka eteričnih ulja ukazuju da pravi antibakterijski sinergistički efekat između kombinacija dve komponente (eugenola i cinamaldehida, kao i između timola i karvakrola) nije uočen, što je u korelaciji za rezultatima istraživanja Nazera i saradnika (2005).

ZAKLJUČAK

U našim istraživanjima je urađena izolacija i identifikacija *Salmonella* Enteritidis iz materijala poreklom od živine i ispitana njena osetljivost na eugenol, cinamaldehyd, timol i karvakrol, i njihove kombinacije u uslovima *in vitro*.

Minimalna inhibitorna koncentracija – MIK (određena agar dilucionom metodom) eugenola, kao i kombinacije eugenola sa cinamaldehydom iznosila je 0,625 µl/ml. Cinamaldehyd i smeša himola i karvakrola su u manjoj koncentraciji, 0,312 µl/ml podloge, doveli do inhibicije rasta *S. Enteritidis*. Najbolju antibakterijsku aktivnost imali su timol i karvakrol, a njihov MIK je bio 0,156 mg/ml, odnosno µl/ml.

Na osnovu izvršenih ispitivanja u uslovima *in vitro*, možemo zaključiti da testirana eterična ulja delimično ili potpuno zaustavljaju razmnožavanje *S. Enteritidis*, što ukazuje da mogu imati potencijala kao eventualni antibakterijski fitofarmaci u veterinarskoj medicini.

LITERATURA

1. WHO: World health report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Geneva: World Health Organization, 2002.
2. Mourey A., Canillac N: Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control* 13, 289-292, 2002.
3. Bishop C.D., Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal of Essential Oil Research* 7, 641- 644, 1995.
4. Jayashree T., Subramanyam C.: Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation. *Letters in Applied Microbiology* 28, 179- 183, 1999.
5. Mari M., Bertolini P., Pratella, G.C.: Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 761- 766, 2003.

6. Ultee A., Smid E.J: Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology* 64, 373-378, 2001.
7. Juglal S., Govinden R., Odhav B.: Spice oils for the control of cooccurring mycotoxin-producing fungi. *Journal of Food Protection* 65 (4), 683-687, 2002.
8. Pandey R., Kalra A., Tandon S., Mehrotra N., Singh H.N., Kumar S.: Essential oil compounds as potent source of nematocidal compounds. *Journal of Phytopathology* 148 (7-8), 501-502, 2000.
9. Pessoa L.M., Morales S.M., Bevilacqua C.M.L., Luciano J.H.S.: Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn, and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* 109 (1 – 2), 59-63, 2002.
10. Karpouhtsis I., Pardali E., FeggouE., Kokkini S., Scouras Z.G., Mavragani-Tsipidou, P.: Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1111-1115, 1998.
11. Mahmoud S.S., Croteau R.B.: Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 7 (8), 366-373, 2002.
12. Stojanov I., Velhner M., Orlić D: Značaj vrste uzoraka za izolaciju *Salmonella* vrsta kod živinskih materijala. U: Zbornik kratkih sadržaja / Simpozijum Veterinarstvo i stočarstvo u proizvodnji zdravstveno bezbedne hrane, Herceg Novi, 21-25. juni, Novi Sad: Poljoprivredni fakultet, 2004.
13. Olasupo N.A., Fitzgerald D.J., Gasson M.J., Narbad A.: Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Letters in Applied Microbiology*, 36, 448-451, 2003.
14. Shang-Tzen Chang, Pin-Fun Chen, Shan-Chwen Chang: Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*, *Journal of Ethnopharmacology* 77, 123-127, 2001.
15. Nazer A.I., Kobilinsky A., Tholozan J.L., Dubois-Brissonnet F.: Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv, Typhimurium: a synergistic effect?. *Food Microbiology* 22, 391-398, 2005.

Primljeno: 11. 09. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Aktivnost alkoholdehidrogenaze u jetri krava muzara

Mira Kovačević^{1*}, Slavica Košarčić¹, Milovan Jovičin¹, Ivan Vujanac²,
Aleksandar Milovanović¹, Dejan Bugarski¹, Tomislav Barna¹

¹Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put br. 20

²Fakultet veterinarske medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18

Kratak sadržaj

Na velikim farmama u našoj zemlji silaža je važan dio obroka krava muzara. U sastavu silaže, kao produkti fermentacije pojavljuju se u različitim količinama različite vrste alkohola, a pre svih etil alkohol. Osim toga, u buragu krava hranjenih lako svarljivim ugljenim hidratima, uobičajeno se mogu utvrditi manje količine etanola. Cilj ovog rada je bio da se utvrdi da li se alkohol, koji se dodaje u burag, resorbuje u krv, koliko se dugo zadržava u krvi i kolika je aktivnost ADH u jetri krava koje su alkohol dobijale tokom 21 dana. Za potrebe ovog rada su bila postavljena dva eksperimenta. U prvom eksperimentu su tri krave u periodu puerperijuma, pre obroka dobijale po 100, 200 ili 300 ml preparata „Energy plus” koji u svom sastavu ima 30% etil alkohola. Uzorci krvi su uzimani pre davanja preparata (0) i 1, 2, 3 i 4. sata nakon tretmana radi određivanja koncentracije etanola. U drugi eksperiment su bile uključene 3 krave u periodu visokog graviditeta, 10 dana prepartalno. Ove životinje su dobijale po 300 ml preparata „Energy plus” tokom 21 dana (10 dana prije očekivanog termina telenja i 11 dana postpartalno). Jedanaestog dana postpartalno uzimani su uzorci krvi i buragovog sadržaja radi određivanja koncentracije etanola. Buragov sadržaj je uziman 1 sat, a krv 2 sata nakon tretmana. Odmah nakon uzorkovanja krvi urađena je biopsija jetre radi određivanja aktivnosti ADH. Na koncentraciju etanola u krvi krava je uticalo vreme uzorkovanja pokazujući najveće razlike između prvog i drugog uzorkovanja ($p=0,01$), kao prvog i trećeg ($p=0,03$), dok između prvog i poslednja dva uzorkovanja nema statistički značajnih razlika. Također postoji visok koeficijent korelacije ($r=0,92$, $0,97$ i $0,97$) između koncentracije alkohola u krvi i količine alkohola koju su krave dobile infuzijom etanola (100, 200, 300 ml). Dodavane količine alkohola su takve da prekomerno ne pokreću metabolički put razgradnje alkohola u jetri, s obzirom na činjenicu da se aktivnost ADH nalazi u fiziološkim granicama.

Ključne riječi: jetra, etanol, aktivnost alkoholdehidrogenaze, krave muzare

* e-mail: mira@niv.ns.ac.yu

Alcohol hydrogenase activity in the liver of dairy cows

Mira Kovačević¹, Slavica Košarčić¹, Milovan Jovičin¹, Ivan Vujanac²,
Aleksandar Milovanović¹, Dejan Bugarški¹, Tomislav Barna¹

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

²Faculty of Veterinary Medicine, Beograd, Bulevar oslobođenja 18

Apstract

On large farms in our country silage presents an important part in dairy cows ration. During the process of fermentation, different kinds and amounts of alcohol, first of all ethyl alcohol, emerge in silage. Besides this, in rumen of cows fed with easily digested carbohydrates, a small quantity of ethanol can be detected. The aim of this paper was to determine if alcohol added to rumen is resorbed in blood, determine how long it retains in blood and what is ADH activity in liver in the cows that have been receiving alcohol for 21 days. Two experiments were set for this purpose. In the first experiment three cows in the phase of puerperium received 100, 200 or 300 ml/ratio „Energy plus” that contains 30% of ethyl alcohol. The blood was sampled before administration of „Energy plus” (0) and 1, 2, 3 and 4 hours after treatment for determining ethanol concentration. The second experimente included 3 cows in high gravity, 10 days prepartal. They were given „Energy plus” for 21 days (10 days before expected calving and 11 days postpartum). On the eleventh day postpartum the blood and rumen content were sampled for determining ethanol concentration. The rumen content was sampled 1 hour and blood 2 hours after the treatment. Immediately after blood sampling liver biopsy was done for determining ADH activity. The concentration of ethanol in blood was influenced by time of sampling showing the largest differences between the first and second sampling ($p=0.01$), as well between the first and the third ($p=0.03$), while between the first and the last two sampling there were no statistically important differences. Also, the correlation coefficient was very high ($r=0.92$, 0.97 and 0.97) between concentration of alcohol in blood and amount of alcohol that the cows received through ethanol infusion (100, 200, 300 ml). Added amount of alcohol did not significantly change metabolic decomposition of alcohol in liver, since activity of ADH is within the limits of physiological values.

Key words: liver, ethanol, alcohol hydrogenase activity, dairy cows

UVOD

Na velikim farmama u našoj zemlji silaža je važan deo obroka krava muzara. U sastavu silaže, kao produkti fermentacije pojavljuju se u različitim količinama različite vrste alkohola, a pre svih, etil alkohol. Osim toga, u buragu krava hranjenih lako svarljivim ugljenim hidratima, uobičajeno se mogu utvrditi manje količine etanola (Allison, 1964; Pradhan, 1970) što je u skladu sa rezultatima drugih istraživača (Teunissen, 1992; Laukova, 1992) koji su pokazali da gljivice i bakterije buraga mogu da sintetišu alkohole.

Pedesetih godina prošlog veka se smatralo da alkohol kao aditiv manje kvalitetnim obrocima u ishrani preživara utiče na bolje iskorištavanje uree (Andersson, 1955, 1957), ali već šezdesetih istraživači zaključuju da je u ishrani preživara etanol značajan samo kao izvor energije (Emery, 1959; Garrett, 1963; Chalupa, 1964).

Oraskov i Hemken (1967) su nedvosmisleno utvrdili povećanje procenta mlečne masti nakon kontinuirane infuzije etanola, a Radby (1999) osim povećanja procenta mlečne masti ukazuje i na povećanje koncentracije proteina u mleku. Međutim, isti autor je utvrdio da dodavanje većih količina etanola u obrok za ishranu krava uzrokuje promenu i ukusa i mirisa mleka.

Metabolizam etanola je najdetaljnije ispitano kod ljudi, što je dobro dokumentovano u preglednom radu Crabba i sar. (2004). Utvrđeno je da su za katabolizam ovog alkohola ključna dva enzima, alkohol dehidrogenaza (ADH) i aldehid dehidrogenaza (ALDH), a oba enzima imaju više izoenzimskih formi. Alkoholdehidrogenaza se nalazi u citosolu i mikrozomima, a ALDH je mitohondrijalni enzim. U nizu reakcija etanol preko acetaldehida prelazi u acetil CoA uz stvaranje redukovano NAD (NADH).

Sudbina etanola iz buragovog sadržaja vezana je za mikrobijalni metabolizam, ali i za apsorpciju preko buragove sluzokože (Jean-Blain 1992). Ispitivanje aktivnosti ADH u različitim organima goveda uradili su Kovar i sar. (1983). Prema rezultatima tih ispitivanja aktivnost alkohol dehidrogenaze je najveća u jetri, ali je detektovana i u bubrezima, duodenumu, nadbubrežnoj žlezdi, plućima, slezini, srcu, timusu i ovarijumu. Aktivnost ADH u ovim organima je značajno manja u odnosu na jetru.

Metabolizam alkohola kod mlečnih krava, kako je rekao Kristensen (2007), komplikovan je sistem zbog toga što je broj njegovih izvora veliki, zbog toga što postoje višestruke mogućnosti razgradnje alkohola, a istovremeno je i nedovoljno rasvetljen.

Cilj ovog rada je bio da se utvrdi da li se alkohol koji se dodaje u burag resorbuje u krv, koliko se dugo u krvi zadržava i kolika je aktivnost ADH u jetri krava koje su alkohol dobijale tokom 21 dana.

MATERIJAL I METODE RADA

Za potrebe ovog rada su bila postavljena dva eksperimenta. U prvom eksperimentu su tri krave u periodu puerperijuma pre obroka dobijale po 100, 200 ili 300 ml preparata „Energy plus” koji u svom sastavu ima 30% etil alkohola. Uzorci

krvi su uzimani pre davanja preparata (0) i 1, 2, 3 i 4 sata nakon tretmana radi određivanja koncentracije etanola.

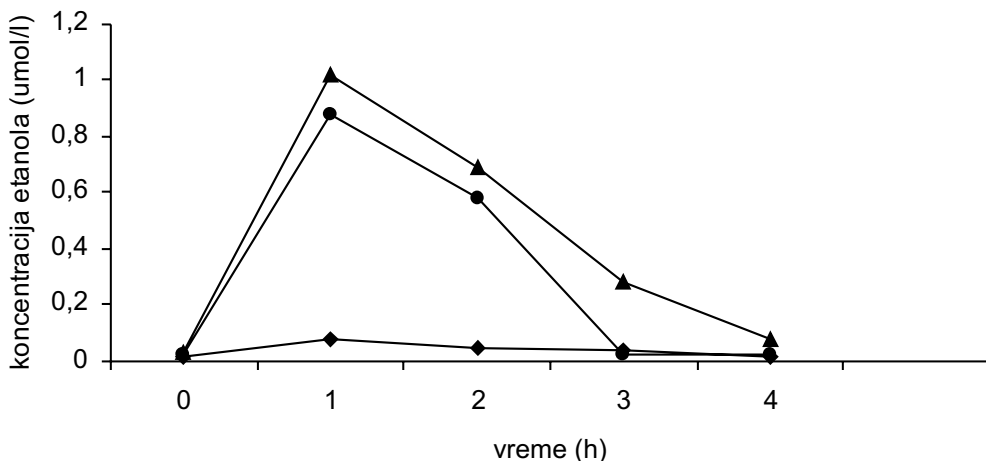
U drugi eksperiment su bile uključene 3 krave u periodu visokog graviditeta 10 dana prepartalno. Ove životinje su dobijale po 300 ml preparata „Energy plus” tokom 21 dana (10 dana prije očekivanog termina telenja i 11 dana postpartalno). Jedanaestog dana postpartalno uzimani su uzorci krvi i buragovog sadržaja radi određivanja koncentracije etanola. Buragov sadržaj je uziman 1 sat, a krv 2 sata nakon tretmana. Odmah nakon uzorkovanja krvi urađena je biopsija jetre radi određivanja aktivnosti ADH.

Uzorci krvi su uzimani punkcijom v. jugularis u epruvete koje su sadržavale natrijum fluorid kao antikoagulans. Uzorkovanje buragovog sadržaja vršeno je pomoću univerzalne predželudačne opružne sonde UPS-NS (Lalić i sar., 1996). Biopsija jetre je rađena modifikovanom metodom (Gaal, 1983) koju su preporučili Iversen i Rahlom (1939), a uzorci su transportovani u plastičnim kesicama u ledu na -18°C .

U uzorcima krvi je određivana koncentracija alkohola gasnom hromatografijom, plameno jonskim detektorom. Aktivnost ADH je određivana kolorimetrijski, upotrebom seta (cat:E-108) BRSC, USA. Reakcija je zasnovana na redukciji tetrazolium soli INT u NADH u enzimatskoj reakciji u formazon koji je rastvoriv u vodi i ima maksimum apsorpcije na 492 nm.

REZULTATI RADA

Grafikon 1. Koncentracija etil alkohola u krvi (μmol/ml) krava koje su dobile po 100 ml (◆), 200 ml (●) ili 300 ml (▲) preparata „Energy plus”. Redosled na x osi: (0) označava uzimanje uzoraka krvi prije davanja preparata, a 1, 2, 3 i 4 označavaju vreme uzorkovanja krvi nakon davanja preparata (sati).



Na koncentraciju etanola u krvi krava je uticalo vreme uzorkovanja pokazujući najveće razlike između prvog i drugog uzorkovanja ($p=0,01$), kao prvog i trećeg ($p=0,03$) dok između prvog i poslednja dva uzorkovanja nema statistički značajnih razlika. Također postoji visok koeficijent korelacije ($r=0,92, 0,97$ i $0,97$) između koncentracije etanola u krvi i količine alkohola koju su krave dobile infuzijom etanola u burag (100, 200, 300 ml).

Tabela 2. Koncentracija etanola u buragu i krvi i aktivnost ADH u jetri krava koje su preparat „Energy plus” dobijale tokom 21 dana

Koncentracija etanola u buragovom sadržaju ($\mu\text{mol/ml}$)	Koncentracija etanola u krvi ($\mu\text{mol/ml}$)	Aktivnost ADH u jetri (nkat/g proteina)
$0,64 \pm 0,24$	$0,21 \pm 0,06$	3200 ± 200

Koncentracija etanola u buragovom sadržaju je viša u odnosu na njegovu koncentraciju u krvi, ali razlika nije statistički značajna. Aktivnost alkohol dehidrogenaze u jetri krava je u okviru fizioloških granica.

DISKUSIJA

Rezultati naših ispitivanja pokazuju da se najveća količina etanola iz sadržaja buraga u krv apsorbuje u toku prvog sata nakon infuzije preparata „Energy plus”. Nakon toga koncentracija etanola u krvi postepeno opada da bi četiri sata posle davanja infuzije dostigla početni nivo. Kristensen i sar. (2007) su utvrdili da etanol u krvi krava dostiže najvišu koncentraciju 3 sata nakon tretmana, a nakon 7 sati koncentracija etanola u krvi dolazi na početni nivo. Ova razlika se vrlo verovatno javlja zbog količine etanola koji je uključen u obrok. Koncentracija etanola u buragu koju su ustanovili Kristensen i sar. je iznosila od 2 do 6 mmol/l, dok je u našem eksperimentu ona znatno niža ($0,4\text{--}0,96$ mmol/l).

Osim toga, u našem ogledu kod krava koje su dobile najveću količinu preparata, a time i najveću količinu etanola (300 ml), njegov potpuni obrt je produžen jer nakon četiri sata ove životinje u krvi imaju nešto viši sadržaj u odnosu na početni. Prosečna vrednost aktivnosti ADH u jetri je iznosila 3300 nkat/g proteina i u potpunosti je u skladu sa rezultatima do kojih su došli Kovar i sar. (1983). Rezultat pokazuje da količina etanola koju su životinje dobijale infuzijom u burag nije značajno uticala na rad jetre. Ova činjenica može biti značajna za tumačenje, razumevanje i preporuke o poboljšanju energetskog metabolizma krava u puerperijumu. Zato što je etanol čisti nutrijent, a jedan deo se direktno resorbuje u krv, očekuje se da je konverzija ukupne energije u neto energiju za etanol viša u odnosu na uobičajena hraniva (Randby i sar., 1999). Isti autori su ispitivali efekat dodavanja etanola na sadržaj mlečne masti i kompoziciju masnih kiselina mleka. Oni su utvrdili da se u mleku povećava procenat masti i proteina. U sastavu mleka su u većem broju zastupljene zasićene masne kiseline kratkih i srednjih lanaca dužine koje se sintetišu u vimenu, dok je zastupljenost masnih kiselina dugačkih lanaca koje nastaju u jetri u procesu lipomobilizacije manja od uobičajene. Ovakav nalaz je suprotan kompoziciji mleka

ketoznih krava kod kojih je povećanje procenta mlečne masti vezano za pojačanu lipomobilizaciju i povećanje sadržaja masnih kiselina dugačkih lanaca. S druge strane, velike količine dodatog alkohola mogu da utiču na stvaranje nepoželjnog mirisa mleka.

Buduća ispitivanja treba da daju odgovore o mogućnosti i načinu korišćenja etanola u ishrani mlječnih krava, naročito u periodu ranog puerperijuma, kao faktora koji bi mogao da utiče na smanjenje lipomobilizacije u ovom periodu.

LITERATURA

1. Allison M.J., Bucklin J.A., Dougherty R.W.: Ruminal changes after overfeeding with wheat and the effect of intraruminal inoculation on adaptation to a ration containing wheat. *J. Animal Sci.* 23: 1164-1171, 1964.
2. Andersson P.C., Rapp J.L.C.: Available hydrogen for rumen microfloral synthesis of protein in ruminants. Feed Service Comm.1(1) Crete Nebraska: Feed Service Corp, 1995.
3. Chalupa W., Evans J.L., Stillions M.C.: Influence of ethanol on rumen fermentation and nitrogen metabolism. *J. Animal Sci.* 23: 802-807, 1964.
4. Crabb D.W., Michinaga Matsumoto, Chang D., Min You: Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology. *Proc. of the Nutrition Society* 63, 49-63, 2004.
5. Emery R.S., Lewis T.R., Everett J.P., Lassiter C.A.: Effect of ethanol on rumen fermentation. *J. Dairy Sci.* 42: 1182- 1187, 1959.
6. Garrett W.N., Meyor J.H. : Ethyl alcohol supplement not beneficial to cattle in feed lots. *Calif. Agr.* 17 (9) 11-15, 1963.
7. Jean-Blain C., Durix A., Tranchant B.: Kinetics of ethanol metabolism in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 32: 83-90, 1992.
8. Kristensen N.B., Stortm A., Raun B.M.L., Rojen B.A., Harmont D.L.: Metabolism of silage alcohol in lacting dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1364-1377, 2007.
9. Kovar J., Racek P., Vlčkova V.: Alcohol dehydrogenase activity and isoenzyme distribution in the organs of cow, pig and sheep. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B (1) 161-165, 1983.
10. Lalić M., Jovičin M., Pavlović R., Jovanović Đ.: Registar malih patenata 105. *Glasnik intelektualne svojine*, 5, 549, 559 (1-7), 1996.
11. Laukova A., Marounek M.: Physiological and biochemical characteristics of staphylococci isolated from the rumen of young calves and lambs. *Zentralbl. Mikrobiol.* 147: 489-494, 1992.
12. Orskov E.R., Hemken R.W, Moore L.A.: Effect of ethanol infusion on milk fat content and composition and on volatile fatty acids in the rumen liquor. *J. Dairy Sci.* 50: 692-698, 1967.
13. Pradhan K., Hemken R.W.: Utilisation of ethanol and its effect on fatty acid patterns in ruminants. *J. Dairy Sci.* 53: 1739-1746, 1970.

14. Randby AT, Selmer-Olsen I., Baevre L.: Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. *J. Dairy Sci.* 82:420-428, 1999.
15. Teunissen M.J., Kets E.P.W., Op den Camp H.J.M, Huis in't Veld J.H.J, Vogels G.D.: Effect on coculture of anaerobic fungi isolated from ruminants and non-ruminants with methanogenic bacteria on cellulosic and xylanolytic enzyme activities. *Arch. Microbiol.* 157:176-182, 1992.

Primljeno: 17. 07. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

Ekskrecija aflatoksina mlekom: rizik za potrošače

Milica Živkov-Baloš*, Željko Mihaljev, Mira Kovačević, Dejan Bugarski
Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Kratak sadržaj

U periodu januar-jun 2006. godine uzorci hraniva i hrane za životinje prikupljani su iz mešaona i fabrika hrane za životinje sa Južnobačkog i Sremskog okruga. Uzorci sirovog mleka kao i potpunih smeša uzeti su sa 5 farmi muznih krava. Ispitano je ukupno 50 uzoraka sirovog mleka. Uzorci hraniva ispitivani su na prisustvo aflatoksina B1 primenom tehnike tankoslojne hromatografije i uporedno, primenom imuno-enzimskih testova. Uzorci sirovog mleka ispitivani su primenom imuno-enzimskih testova za otkrivanje aflatosina M1. Primenjenom metodom tankoslojne hromatografije utvrđeno je da je količina aflatoksina u svim ispitanim hranivima i smešama ispod granice detekcije primenjene metode, odnosno ispod MDK što je potvrđeno i primenom ELISA set kita za Afla B1. Od ukupno 50 ispitanih uzoraka sirovog mleka, aflatoxin M1 detektovan je u dva uzorka poreklom sa različitih farmi. Količina aflatoksina iznosila je 7,5 ng/l, odnosno 10 ng/l što je značajno niže nego MDK. Na osnovu rezultata istraživanja smatramo da je neophodno, osim obaveznog ispitivanja sirovina, odnosno hraniva, uvesti i obavezu ispitivanja sirovog mleka na prisustvo aflatoksina.

Ključne reči: mleko, hrana za životinje, aflatoxin

* milica@niv.ns.ac.yu

Aflatoxin excretion through milk: a risk for consumers

Milica Živkov-Baloš*, Željko Mihaljev, Mira Kovačević, Dejan Bugarski
Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

Abstract

In the period January to June 2006 the samples of feed were collected from feed factories in Southern Bačka and Srem district. The samples of raw milk and full mix were taken from 5 dairy farms. A total of 50 raw milk samples was examined. The samples were examined on the presence of aflatoxin B1 using the method of thin layer chromatography (TLC) and simultaneously, using ELISA tests. Milk samples were examined using immunoenzyme tests for the presence of aflatoxin M1. Aflatoxin content in all the examined feed and mix samples was below LOD (limit of detection) of TLC method, also this content was below MRL according to ELISA method. In total of 50 samples of raw milk, aflatoxin M1 was detected in two samples originating from different farms. Aflatoxin was detected in 7.5 ng/l, i.e. 10 ng/l respectively, what is considerably lower than MRL. Based on the obtained results it is considered that obligatory control of raw milk for the presence of aflatoxin is necessary.

Key words: milk, feed, aflatoxin

UVOD

Mikotoksini prisutni u hrani za životinje ne predstavljaju samo problem po zdravlje i produktivnost životinja, već su i opasnost po zdravlje ljudi zbog prenošenja rezidua u proizvode animalnog porekla. Aflatoksini su mikotoksini koji poseduju hepatotoksično i kancerogeno dejstvo, izazivaju citozu i inhibiraju mitozu ćelija.

Aflatoksini B₁ i B₂ uneti hranom u organizam krava, izlučuju se mlekom kao M₁, odnosno M₂. Količina aflatoksina u mleku je direktno proporcionalna onoj u hrani za životinje. Iako se sav aflatoksin iz hrane za životinje ne izlučuje samo putem mleka, literaturni podaci ukazuju da je mleko hrana animalnog porekla najviše izložena riziku.

S obzirom na značaj i opasnost rezidua mikotoksina po zdravlje ljudi mišljenja smo da je važno uvrstiti i ispitivanje mleka na prisustvo mikotoksina u redovne i sistematske kontrole.

Cilj ovih istraživanja je dobijanje informacija o prisustvu aflatoksina u sirovinama i gotovim smešama za ishranu krava muzara poreklom sa Južnobačkog i Sremskog okruga, dobijanje informacija o prisustvu aflatoksina u sirovom mleku, te ocena

značajnosti uspostavljanja sistematske i permanentne kontrole zdravstvene ispravnosti hrane za životinje i sirovog mleka na prisustvo aflatoksina.

MATERIJAL I METODE RADA

Uzorci hraniva i hrane za životinje prikupljeni su iz mešaona i fabrika hrane za životinje sa Južnobačkog i Sremskog okruga tokom perioda januar-jun 2006. godine. Uzorci sirovog mleka kao i potpunih smeša uzeti su sa 5 farmi muznih krava. Ispitano je ukupno 50 uzoraka sirovog mleka.

Za određivanje aflatoksina u hrani za životinje i mleku primenjeni su odgovarajući ELISA testovi i to:

- * za hraniva i hranu za životinje: Aflatoksin B1 – Immunoscreen Aflatoxin B1 GOLD – elisa KIT- *Tecna, Italy*,
- * za uzorke mleka: Aflatoksin M1 – Assay kit for Aflatoxin M1 – elisa KIT – *Tecna, Italy*.

Kao uporedna metoda za određivanje aflatoksina u hrani za životinje primenjena je metoda hromatografije na tankom sloju (*Sl. list SFRJ* br. 15/87).

Tabela 1: Vrsta i broj uzoraka ispitanih hraniva i smeša za ishranu krava muzara

Red. br.	Vrsta hraniva	Broj uzoraka
1	Kukuruz	20
2	Kukuruzna silaža	10
3	Sojina sačma	3
4	Sojin griz	3
5	Suncokretova sačma	8
6	Repin rezanac	5
7	Lucerkino brašno	3
8	Seno lucerke	10
9.	Potpuna smeša za ishranu krava muzara	15
UKUPNO		77

REZULTATI I DISKUSIJA

Primenjenom metodom tankoslojne hromatografije utvrđeno je: količina aflatoksina u svim ispitanim hranivima i smešama je ispod granice detekcije primenjene metode (0,025 mg/kg za hraniva i 0,005 mg/kg za potpune smeše za krave muzare).

Primenom ELISA set kita za Afla B1 potvrđeni su rezultati dobijeni metodom TLC: količina aflatoksina u svim ispitanim hranivima i smešama je ispod granice detekcije primenjene metode (0,5 rrb).

Od ukupno 50 ispitanih uzoraka sirovog mleka, aflatoksin M1 detektovan je u dva uzorka poreklom sa različitih farmi. Količina aflatoksina iznosila je 7,5 ng/l, odnosno 10 ng/l što je značajno niže nego maksimalno dozvoljena količina (0,5 µg/kg prema

Pravilniku o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama (*Sl. list SRJ*, br. 5/92 i Ispravkama navedenog Pravilnika (*Sl. list SRJ*, 11/92). Izmerene količine su niže i od graničnih vrednosti propisanih u EU (0,05 µg/kg).

ZAKLJUČAK

- Svi ispitani uzorci hraniva i potpunih smeša za ishranu krava muzara (77) su odgovarali zahtevima Pravilnika o maksimalnim količinama štetnih materija i sastojaka u stočnoj hrani, *Sl. list SFRJ* 2/90, čl. 4, u pogledu prisustva aflatoksina B1 i B2;
- rezultati dobijeni primenom tankoslojne hromatografije potvrđeni su primenom imunoenzimskog ELISA set kita za ispitivani mikotoksin;
- svi ispitani uzorci sirovog mleka (50), su odgovarali zahtevima Pravilnika o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama, *Sl. list SRJ*, br. 5/92 i Ispravkama navedenog Pravilnika, *Sl. list SRJ*, 11/92). Od ukupnog broja ispitanih uzoraka (50) u dva uzorka detektovan je aflatoksin M₁ u količini koja je značajno niža od propisima maksimalno dozvoljene.

Na osnovu rezultata istraživanja smatramo da je neophodno, osim obaveznog ispitivanja sirovina, odnosno hraniva, uvesti o obavezu ispitivanja sirovog mleka na prisustvo aflatoksina.

Sve aktivnosti bi trebale da budu bazirane na upotrebi najnovijih naučnih i stručnih saznanja, u cilju karakterizacije i procene opasnosti i izloženosti riziku.

LITERATURA

1. Betina V.: Chromatography of mycotoxins – techniques and applications, *Journal of Chromatography Library*, 54, 124-134, 1993.
2. Đilas S., Živkov-Baloš M., Mrđen M., Mihaljev Ž., Mašić Z.: Kontaminiranost hrane za životinje plesnima tokom 2001 godine. *Veterinarski žurnal Republike Srpske*, 1, 3, 139-42, 2001.
3. Đilas S., Mašić Z., Živkov-Baloš M., Mihaljev Ž.: Mikotoksini u mleku i proizvodima od mleka. U: Zbornik Radova Savremeni trendovi u mlekarstvu, Jugoslovenski mlekarSKI simpozijum, Zlatibor, 29.03.-02.04.2000 godine, Beograd: Zajednica stočarstva, 72-7, 2000.
4. Jovanović V., Kopećni M., Milonjić S., Ruvarac A., Spirić A., Višacki V.: Hromatografija – teorijski i praktični aspekti, Vinča: Institut za nuklearne nauke „Boris Kidrič”, 105-125, 1988.

5. Maqbool U., Maqbool A., Anwar-ul-Hag, Moshin Iqbal M.: Determination of aflatoxin-B1 in poultry feed and its components employing enzyme-immunosorbent assay (ELISA). *Toxicological and Environmental Chemistry*, 86, 4, 213-8, 2004.
6. Milošević M., Vitorović S.: Osnovi toksikologije, Beograd: Naučna knjiga, 148, 1992.
7. Muntaðola M.: Opšta mikologija, Beograd: Književne novine, 259- 262, , 1987.
8. Roussi V., A. Govarris, A. Varagouil, N.A. Botsogiou: Occurence of aflatoxin M1 in raw milk commercialized in Greece. *Food Additives&Contaminants*, 19, 9, 863-68, 2002.

Primljeno: 10.07.2008.

Odobreno: 21.10.2008.

Uticaj aklimatizacije i životnog doba na kvalitet sperme uvoznih nerastova

Milovan Jovičin^{1*}, Aleksandar Milovanović¹, Blagoje Stančić²,
Radoslav Došen¹, Tomislav Barna¹

¹ Naučni institut za veterinarstvo «Novi Sad», Novi Sad, Rumenački put 20

² Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8

Kratak sadržaj

Opisani su procesi aklimatizacije i adaptacije nerastova na klimatske i mikroklimatske uslove. Detaljno su analizirani procesi razvoja i polnog sazrevanja u toku odgoja i privikavanja nerastova na uzimanje sperme u centrima za veštačko osemenjavanje ili na uslove u pripusnoj stanici. Konstatovano je da se odgovarajućim mikroklimatskim uslovima može odstraniti klimatski sterilitet, pa čak i povećati plodnost svinja. Nakon kupovine i uvoza mladih nerastova, veoma je važan pravilan odgoj i obuka nerasta za skok i uzimanje sperme. Uvozni nerastovi daju kvalitetnije ejakulate native sperme u odnosu na nerastove domaćih rasa, ali su osetljiviji na nespecifične infekcije, koje mogu da umanje vitalnost spermatozoida, oštete akrozom, poremete sazrevanje spermatozoida, a time i oplodnu sposobnost razređenog semena. Smeštaj i ishrana imaju vrlo značajnu ulogu u maksimalnom iskorišćavanju produktivnih svojstava plemenitih rasnih svinja, posebno za duži životni i proizvodni vek uvoznih nerastova.

Ključne reči: nerast, mikroklima, životna dob, sperma

* e-mail: milovan@niv.ns.ac.yu

The influence of acclimatization and age of imported boars on the quality of their sperm

Milovan Jovičin^{1*}, Aleksandar Milovanović¹, Blagoje Stančić²,
Radoslav Došen¹, Tomislav Barna¹

¹Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad, Rumenački put 20

² Faculty of Agriculture, Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8

Abstract

In the paper the process of acclimatization and adaptation of boars on climate and microclimate conditions are described. The process of growth and sexual maturity during the breeding and accustoming of boars in taking sperms in the centers of artificial insemination or breeding stations are analyzed. It is concluded that appropriate microclimate conditions may solve sterility provoked by climate conditions and even increase fertility of pigs. For purchased and imported young boars it is very important that animals are raised in a proper way and trained for mounting and semen collecting. Ejaculate in the native sperm of imported boars is better quality comparing to the ejaculate of home breeds, but they are sensitive to unspecific infections that can reduce spermatozoa vitality, damage acrosome, disturb spermatozoa maturation and thus influence fertilizing of diluted semen. Housing and nutrition of high-born breed boars has important role in maximal exploitation of producing ability especially on longevity and lifetime production of the imported boars.

Key words: boar, microclimate, age, sperm

UVOD

Najbolji rezultati u proizvodnji svinja postižu se po sistemu uzgojno-priplodnih i reprodukciono-matičnih centara, utemeljenih na sistematskom oplemenjivačkom radu genetičara i selekcionara tokom više godina. Ovakav način proizvodnje svinja za priplod zastupljen je u zemljama sa vrlo razvijenim svinjarstvom (Danska, Poljska, Holandija, Švedska, Engleska i druge). Planskim radom od najkvalitetnijih uvoznih grla mogu se formirati matična stada kao i linije od svakog kvalitetnog uvezenog nerasta. Ako se vodi uredna evidencija i striktna selekcija potomstva i ako se obezbedi pravilna ishrana i nega, uvoz radi osvežavanja krvi može se svesti na minimum, a time i materijalni izdatci.

Jedan od osnovnih zahvata na bržem preobražaju našeg svinjarstva bio je uvoz velikog broja ranostasnih i visokoproduktivnih rasa svinja. U periodu 1953-1963. godine uvezeno je oko 12000 priplodnih svinja rase veliki jorkšir (4597 grla iz Velike Britanije), holandskog landrasa (6329 grla iz Holandije) i švedskog landrasa (1074 grla iz Švedske). Od ukupnog broja uvezenih priplodnih grla veliki jorkšir je zastupljen sa 37,5%, holandski landras 52%, švedska svinja 9%, berkšir 1% i kornval sa 0,5%. To je bio jedan od najvećih uvoza priplodnih svinja u istoriji svetskog svinjarstva.

Bele mesnate i druge plemenite rase svinja odlikuju se velikim produktivnim svojstvima. U maksimalnom iskorišćavanju tih svojstava smeštaj svinja ima vrlo značajnu ulogu. Upravo u tom pogledu značajni su ne samo mikroklimatski uslovi već i opšti ambijent i niz tehničkih i tehnoloških rešenja.

AKLIMATIZACIJA I ADAPTACIJA

Klima predstavlja prosečno vremensko stanje svih meteoroloških elemenata, karakterističnih za podneblje tokom dužeg vremenskog perioda. Najvažniji elementi klime su osunčanje (insolacija), temperatura, vlažnost vazduha, oblačnost, količina i raspored vodenog taloga, vazdušni pritisak i vetrovi.

Aklimatizacija je prilagođavanje biljnih i životinjskih organizama klimi i geografskom području različitim od onih gde su ranije živeli. Inklimatizacija je proces trajne adaptacije na novu klimu i različita je za pojedine ljude i rase.

U stranoj literaturi se procesi vezani za prilagođavanje organizama na nove uslove nazivaju adaptacija, a aklimatizacija se odnosi na promenu reaktivnosti organizma u toku dugotrajnog delovanja spoljašnje sredine. Prilikom premeštanja u nepovoljne uslove opstanka organizmi se ne aklimatizuju. Aklimatizacija je povezana sa nastankom određenih fizioloških i morfoloških prilagođenosti, koje omogućuju da jedinke prežive u novim uslovima i da se razmnožavaju, dajući potomstvo koje se dalje prilagođava novoj sredini.

Stepen prilagodljivosti organizama je različit. Neke vrste imaju veliku sposobnost da se prilagode na nove uslove postojanja i podnose proces aklimatizacije lako i brzo. Kod drugih vrsta proces teče sporo, a neke vrste se aklimatizuju samo u određenim uslovima držanja i ishrane, odabiranja i selekcije, koje samo čovek može da stvori. U kompleksu uslova koji utiču na aklimatizaciju, veliki značaj imaju temperatura i vlažnost vazduha, jačina svetla, trajanje i dinamika osvetljenosti, insolacija, kao i karakter tla i reljef podneblja. Posebnu važnost imaju količina i sastav hraniva, navodi Merkureva (1968).

Slonim (1974) detaljno opisuje dešavanja u toku populacione fiziološke adaptacije, karakteristična za grupu organizama (populaciju) jedne vrste ili rase, koja se nalazi u određenim uslovima sredine. U početku, individualna fiziološka adaptacija uključuje pojave opšteg napora (stresa) i nespecifičnu orijentacionu reakciju (prva faza). Kasniji uticaji dovode do formiranja stabilnog hormonalnog statusa, praćeno promenama u nadbubregu, povećanjem sadržaja kortikosteroida u

krvi i njegovim izlučivanjem u mokraći (druga faza). Pri tome dolazi do promena aktivnosti štitaste žlezde, posebno izraženih kod delovanja hladnoće i hipoksije. U trećoj fazi dolazi do značajnih izmena u tkivima (oksidativni procesi, aktivnosti enzima, međusobni odnos slobodne oksidacije i oksidativne fosforilacije, osetljivost na hormone i dr.). Brzina prolaska kroz pojedine faze fiziološke adaptacije je različita. Kod velikih domaćih životinja fiziološka adaptacija se praktično odvija u toku čitavog individualnog razvoja. Fiziološke promene ili reakcije odvijaju se po jednom od dva tipa. Kod prvog tipa dolazi do znatnih reaktivnih promena sistema koji održavaju homeostazu, npr. respiratornog sistema i krvi (učestalo disanje, povećanje broja eritrocita i količine hemoglobina kod nedostatka kiseonika u planinama; učestalost disanja kod visoke temperature kod mesojeda i preživala). Pri tome se održava postojanost unutrašnje sredine, a promene u tkivima su neznatne. Kod drugog tipa je reaktivnost ovih sistema smanjena, promene u tkivima su znatno izraženije, a sama tkiva (uključujući i centralni nervni sistem, kao najosetljiviji na spoljašnje faktore), stiču veliku otpornost. Ovo su najdublje faze fiziološke adaptacije, formirane često još u filogenezi. Prilagođenost organizma se najlakše postiže u mladom uzrastu, često u ranom postnatalnom periodu. Kriterijumi za ocenu fiziološke adaptacije domaćih životinja odgajanih u nepovoljnim uslovima sredine su: reakcije kardiovaskularnog i respiratornog sistema, krvne slike, aktivnosti organa za varenje, metabolizam vode (odnos između unutarćelijske i međućelijske tečnosti) i telesna temperatura. Za ocenu priviknutosti životinja na uslove žarke klime, najveći značaj ima učestalost disanja i telesna temperatura. Utvrđeno je da su ovi pokazatelji viši kod neadaptiranih životinja, u odnosu na lokalne rase, kod kojih je metabolizam snižen, količina krvi veća, a telesna temperatura nepromenjena. Fiziološki kriterijumi adaptacije ne moraju se podudarati sa zootehničkim pokazateljima. Pojačana funkcija pojedinih sistema dovodi do kočenja aktivnosti drugih sistema. Tako, povišena aktivnost termoregulacije koči rast i razvoj, produkciju mleka i razmnožavanje domaćih životinja.

Studencov i sar. (1980) navode da prilikom uvoza životinja treba imati u vidu mogućnost „klimatskog” steriliteta. Sa premeštanjem životinja u druge regione dolazi do novih uslova insolacije, neobičnog sastava hraniva, temperature vazduha i drugih spoljnih delovanja koja utiču na metabolizam. Plodnost životinja može da se menja i pod uticajem meteoroloških kolebanja u pojedinim godinama u istom podneblju. Klimatska neplodnost deli se na kontinentalnu ili zonalnu, izazvanu klimom određene zone i mikroklimatsku koja nastaje zbog neobezbeđivanja smeštajnih objekata za životinje. Odgovarajućim mikroklimatskim uslovima može se odstraniti klimatski sterilitet, pa čak se može i povećati plodnost životinja. Kod priplodnjaka klimatska impotencija ispoljava se u vidu slabljenja ili gubitka polnih refleksa ili smanjenja količine i kvaliteta sperme (oligospermija, oligospermatizam, aspermija ili nekrospermija).

RASNE ODLIKE I PLODNOST SVINJA

Potpuna neplodnost kod svinja nema veliki praktičan značaj. Sa druge strane, kontrola razmnožavanja svinja i povećanje stepena oplodnje, broja prašenja i smanjenje uginuća su jedini način dobijanja profita od svinja. U zapadnoj Škotskoj, gde nema opasnosti od letnjih vrućina, nije ustanovljen uticaj sezone na reprodukciju, na osnovu analize 3631 prašenja, navode Pepper i Taylor (1981), cit. Gordon (1983). Mnogi autori su zaključili da vrućine predstavljaju faktor stresa u reprodukciji svinja, mada godišnje doba nema primetan uticaj na kvalitet sperme nerastova. Ako je odnos farmera prema životinjama loš, njegovo prisustvo može da predstavlja stresnu situaciju za svinje, sve do gubitka sposobnosti za razmnožavanje. Još ne postoje tačne objektivne metode za prognozu reproduktivne sposobnosti nerasta. Važno je da se mladi nerastovi uvode u priplod oprezno i postepeno, da bi se njihova polna aktivnost i oplodna sposobnost sperme održala na visokom nivou, navodi Henry (1972), cit. Gordon (1983). Potrebna je tehnika ranog utvrđivanja suprasnosti, radi ocene priplodne vrednosti nerasta i što ranijeg isključivanja loših priplodnjaka.

Sokolovskaja (1962) navodi da divlje svinje pripadaju životinjama koje ulaze u period razmnožavanja reagovanjem na smanjivanje količine svetla (jesenji period sparivanja). Gonadotropni hormoni upravljaju funkcijama polnih žlezda, a u nepovoljnim uslovima sredine hipotalamus ne šalje impulse za njihovo oslobađanje.

Mitić i sar. (1973) pišu da su rase svinja koje pripadaju grupi masnih svinja pogodne za korišćenje paše i držanje u čoporu leti, a zimi u slabo građenim i primitivnim svinjcima. Nerastovi mangulice ulaze u priplod sa težinom 80 do 90 kg i starošću od jedne godine.

Grupa mesnatih rasa svinja u pogledu ishrane, nege i smeštaja ima veoma veliki zahteve, više je za individualno gajenje i u manjim grupama. Svinje zimi ne mogu da se drže u primitivnim svinjcima, jer je prilagođenost na loše uslove veoma slaba. Nerasti velikog jorkšira ulaze u priplod sa 10 do 12 meseci života i težinom preko 130 kg. Grla landrasa, danske i švedske bele svinje rano stasavaju, tako da se sa 8 meseci pripuštaju. Osetljiva su na lošu ishranu i smeštaj, kao i na veći broj bolesti koje se javljaju u velikim aglomeracijama, kao što su: rinitis, bang, zarazno zapaljenje pluća itd.

Mitić i sar. (1973) nalaze takođe da zapati, čija se visoka proizvodnja održava stalnim osvežavanjem krvi, pokazuju da se grla nisu sasvim aklimatizovala, tako da će njihova vrednost zavisiti od uvoza novih grla iz inostranstva. Ukrštanje radi pretapanja se primenjuje kada je neka rasa svinja otporna i dobro prilagođena sredini, ali ne zadovoljava u pogledu proizvodnje, pa se pretapa u plemenitu rasu uz istovremeno poboljšanje uslova ishrane i nege. Tako se, u stvari, uvodi nova rasa koja se postepeno navikava na uslove sredine. Ukoliko su ovi uslovi nedovoljno obezbeđeni, dobija se nedovoljno razvijeno potomstvo sa slabo razvijenim širinama, plitkim grudima, visokim nogama, izduženom glavom, slabom plodnošću, slabom konstitucijom i slabom otpornošću prema raznim bolestima i klimatskim faktorima.

POLNE FUNKCIJE I ODGOJ NERASTOVA

Ishrana nerasta do 4 meseca života mora se zameniti znatno ekstenzivnijom ishranom, sve do njihovog ulaska u priplod. Ne sme se dozvoliti da se mladi nerastovi hrane tako intenzivno kao tovljenici, pa da već u uzrastu od oko 6 meseci postignu težinu 90 do 100 kg. Posle četvoromesečnog rasta, sa dnevnim prirastom oko 400 g, sa 8 do 9 meseci treba da postignu težinu 100 kg. Pravilna ishrana nerasta značajna je i zbog toga što uspeh u proizvodnji prasadi često više zavisi od nerasta nego od krmače. Sem toga, neplodnost krmača prouzrokovana nepravilnom ishranom nerasta, može dovesti do pogrešne ocene kvaliteta i priplodne sposobnosti tih krmača, zbog čega se one isključuju iz priploda. Za razliku od drugih priplodnjaka, uticaj loše ishrane na nerasta odražava se reljefnije iz razloga što je nivo proizvodnje sperme najviši. Pošto se pripust obično obavlja u jutarnjim i večernjim časovima, dobra je praksa da se bukarenje izvodi pre hranjenja, a ni u kom slučaju pre nego što prođu dva sata posle hranjenja.

Izbor rase svinja vrši se na osnovu cilja odgajivanja i ekonomskih prilika. U svakom kraju postoje rase svinja koje su nastale u njemu i koje se tu gaje, tako da su istovremeno i najbolje prilagođene uslovima toga kraja. Ocena i izbor grla za priplod vrši se na osnovu:

- boje dlake i telesne građe,
- porekla grla,
- ocene roditelja prema potomstvu – progenog testa,
- performans testa.

Sarač i Gagrčin (1998) opisali su mogućnosti i obrazložili su potrebu i prednosti posedovanja sertifikata o poreklu jedinke, sa genetskom kartom, koja omogućuje bolje poznavanje genotipa.

Mogućnosti skraćivanja međugeneracijskog intervala i genetska istraživanja ubrzala su dobijanje transgenih životinja, kloniranje i ostale savremene biotehničke postupke. Zapaženi su i sporedni i neželjeni efekti u ovim eksperimentima, kao na primer sa hormonom rasta. Dolazi do poremećaja u drugoj polovini graviditeta, koji dovode do raznih deformiteta u diferencijaciji pola, kao što su mikropenis i smanjena funkcija fetalnih Lejdigovih ćelija, nalaze Lejeune i sar. (1998).

Mitić i sar. (1973) smatraju da nerast treba da bude temperamentan i da uvek ima volju za skok. Suviše mlitavi i spori nerastovi nisu dobri za priplod, iako mogu davati dobro potomstvo. Nerastovi mogu ponekad izgubiti volju za skok za kraće vreme, pri promeni mesta, klime i uslova držanja. Uslovi smeštaja često imaju presudan značaj u obezbeđenju osnovnih higijenskih i zoohigijenskih mera, koje su prvi preduslov dobrog zdravlja stoke. Ovo treba naročito naglasiti kada je u pitanju podmladak svinja, koji je podložan raznim uzgojnim bolestima, čije sprečavanje i suzbijanje u velikoj meri zavise od smeštajnih prilika.

Pond i Houp (1978) navode da polno sazrevanje nerasta predstavlja proces u toku koga se formiranje sperme i polnog nagona dešava istovremeno, počevši od 4. meseca života. Hijerarhijska dominantnost utiče na učestalost oplodnje od najjačeg

nerasta. Na ukupnu količinu semene tečnosti i spermoprodukciju utiče dostizanje polne zrelosti i masa tela, kao i veličina semenika. Vrućine i nagle promene temperature u toku nekoliko dana mogu da izazovu sterilitet ispoljen kroz smanjenu progresivnu pokretljivost i povećan broj abnormalnih spermatozoida, koji traje do 2 meseca, navode Mc Nitt i First (1970), cit. Pond i Houpt (1978). Nerastovi se istovremeno koriste u priplodu do 5-6 godina i duže, pošto je ukupna spermoprodukcija na visokom nivou u toku više godina posle dostizanja polne zrelosti.

Kvasnickij (1974) nalazi da viša nervna delatnost kod nerasta, u periodu od 4-5 meseci pa do 8-9 meseci, trpi znatne izmene, posebno u pogledu brzine formiranja uslovnih polnih refleksa, njihove stabilnosti i izraženosti. Ovo se dešava zbog delovanja hormona na nervni sistem, u početku polnog sazrevanja, zbog čega su nerastići pokretljiviji i brže reaguju na promene u okolini u odnosu na nazimice.

Seksualno ponašanje nerasta ima naslednu osnovu. Insolacija, adekvatna ventilacija, hlađenje prskanjem vodom u prostoriji za pripust i druge mere, smanjuju nepovoljan uticaj visokih temperatura, navodi Hemsworth (1999).

Hartwig i Bergferd (1975) pišu da širenje oboljenja sa visokom genetskom predispozicijom može biti umanjeno prirodnom selekcijom u industrijskom držanju sa zatvorenim sistemom reprodukcije i ciljanim isključivanjem nosioca. Nasledna oboljenja izazvana faktorima sredine još nemaju puni značaj, ali se izučavaju. Veterinarski nadzor i dnevnik zapažanja važni su kod pripreme za transport, u toku transporta i po prispeću na odredište. Adaptivne reakcije i prilagođavanje životinja mogu da se prate primenom fizioloških, hematoloških, biohemijskih i drugih metoda. Uslove sredine treba prilagoditi prema adaptacionoj sposobnosti životinja, da bi se sprečilo iznenadno nastajanje i delovanje nekoliko izraženih faktora. Prati se imunološki status, prisustvo fakultativnih patogena, uticaj transporta, temperaturni stres itd.

Isti autori daju kategorije po periodima razvoja nerasta: I zalučeni nerastići, sa 32-101 dan i 7-34 kg; II muški podmladak sa 102-182 dana i 35-108 kg; II remontni nerastovi, sa 183-220 dana i 109-132 kg (tada se vrši kompletni androloški pregled); IV nerastovi u testu, sa 221-600 dana i 132 kg; V progenotestirani nerastovi u korišćenju za veštačko osemenjavanje. Nedovoljna polna aktivnost i loš kvalitet sperme otkriva se u početku korišćenja nerasta, u II periodu razvoja. Kvalitet sperme dobija na značaju sa uzrastom nerastova postaje osnovni razlog za eventualno isključenje iz priploda. Organska oboljenja od II do IV perioda nemaju veliku ulogu, a sa uzrastom postaju sve značajnija oboljenja lokomotornog aparata i kardiovaskularnog sistema. Bolesti urogenitalnih organa i pluća, kao i apscesi, značajni su u IV periodu. Poboljšanjem uslova držanja, korišćenjem pogodnih materijala za pod i negom papaka, mogu da se smanje isključenja.

OSOBI NE SVINJA I SMEŠTAJ

Iako su uzgojnim radom čoveka od divlje svinje stvorene brojne domaće plemenite rase svinja, ipak je ova vrsta zadržala još dosta osobina svojih divljih

predaka. Neke od ovih osobina moraju se imati u vidu pri obezbeđenju odgovarajućih smeštajnih uslova i izgradnji objekata za svinje.

Svinja je po svojoj prirodi ostala snažna životinja, sa snažnim i razvijenim rilom i zubima. Po prirodi je čista životinja i najčešće ne prlja površinu na kojoj leži. Sa druge strane, svinja stalno želi da se rashlađuje kvašenjem i kaljužanjem, pa makar to činila u izmetu ili mokraći. Ako su svinje prljave, uzrok tome su najčešće smeštajni uslovi ili greška čoveka koji radi oko njih. Održavanjem čistog i suvog poda u svinjcima sprečava se mnoštvo drugih štetnih pojava, kao što je gubitak toplote i oboljevanje svinja.

Nije poznat nijedan sistem smeštaja koji bi u potpunosti ispunio zahteve u pogledu optimalnosti ambijenta za životinje i ekonomskih interesa. Zbog toga se mora voditi računa o važnijim faktorima, kao što su temperatura, vlažnost i svetlost, i nekim tehničko-tehnološkim momentima (veličini smeštajnog prostora, njegovoj izolaciji i ventilaciji, potrebama i mogućnostima zagrevanja i funkcionalnosti objekta), navode Mitić i sar. (1973).

Temperatura ima najneposredniji uticaj na zdravlje svinja i njihovu produktivnost. Temperature ispod 10°C i preko 26°C smanjuju produktivnost, a ako se donja i gornja granica pomere za još nekoliko stepeni, dolazi do oboljenja i uginuća grla. Optimalna temperatura za nerastove je 10-16°C.

Vlažnost vazduha i mehanička vlažnost podova, zidova, prozora i tavanice, direktno utiču, međusobno i zajedno, na uslove smeštaja svinja. Relativna vlažnost vazduha treba da se kreće od 60 do 80%, a empirijska zapažanja ukazuju da negativan uticaj relativne vlažnosti vazduha na svinje znatno opada sa porastom temperature smeštajnog prostora u zimskom periodu, a raste u letnjem periodu. Za nerastove je optimalna vlažnost vazduha do 75%.

Sastav vazduha u objektima za svinje karakteriše povećanje sadržaja štetnih sastojaka, što ima negativan efekat iz dva razloga: prvo, smanjuje se procenat kiseonika i drugo, direktno negativno utiču na zdravlje i produktivnost životinja. Od štetnih sastojaka treba istaći amonijak (NH₃), ugljen-dioksid (CO₂), sumporvodonič (H₂S), metan (CH₄), vodenu paru, čestice prašine, mikroorganizme i druge. Sastav vazduha i mikroklimatski faktori regulišu se veličinom smeštajnog prostora, izolacijom i ventilacijom [13].

Svetlost, odnosno stepen osvetljenosti smeštajnog prostora, izražava se kroz odnos svetle površine prozora i površine poda, koji treba da bude oko 1:15 do 1:30; drugi način izražavanja je u procentima osvetljene površine poda, koja se kreće od 2,5 do 3,5 %; treći način je odnos svetle površine prozora na 1 grlo svinja, a treba da iznosi 0,05 do 0,1 m².

Veličina smeštajnog prostora zavisi od spoljne klime, tipa objekta, materijala od kojeg se objekti grade, načina zagrevanja i ventilacije i kategorije svinja. Za neraste u otvorenim objektima kubatura za grlo iznosi 10,0 m³, a za neraste u zatvorenim objektima 15,0 m³; površina je u ispustima 15,0 m², a u zatvorenim objektima 5,0-7,0 m².

Termoizolacija i hidroizolacija se može postići na više načina: izborom lokacije objekata, raznim načinima konstrukcije podova, zidova i tavanice, vazдушnim tampon slojevima sa šupljom opekom, debljinom zidova, upotrebom raznih specijalnih materijala itd.

Ventilacija se može vršiti na razne načine: prirodnim putem, kroz prozore i vrata; veštačkim putem sa prirodnom cirkulacijom vazduha (otvori i kanali); veštačkim putem pomoću određenih uređaja.

Regulisanjem klime u stajama za svinje mogu da se stvore vrlo povoljni uslovi upotrebom centralnog grejanja i termogena, u kombinaciji sa provetravanjem. Iako su ovi sistemi skupi i zahtevaju veća ulaganja, ipak su ekonomičniji od drugih.

SMEŠTAJ, ISHRANA I KORIŠĆENJE PRIPLODNIH NERASTOVA

Nerastovi se drže u manjim grupama od 2 do 5 grla. Ograda je nešto jača i sigurnija, a često i viša za 10 do 20 cm od ograde za krmače (koja iznosi 90 do 100 cm). Odgovarajućom ishranom nerasta u velikoj meri mogu se kompenzovati oni faktori koji se gube neprirodnim držanjem svinja. Uopšte uzev, veće količine kabaste hrane (zelena hraniva, brašno od sena leguminoza, repa i sočna hraniva), uz minimalane količine koncentrata (ali biološki punovrednog), formira grlo sa jakom konstitucijom, dobrim zdravljem, dobrom i ekonomičnom proizvodnjom. Drugi tip ishrane, sa velikim udelom koncentrata u obroku, daje nežnija grla, sa povećanim intenzitetom porasta, manjom životnom sposobnošću, ali grla koja mogu davati rekordnu proizvodnju mesa, pišu Mitić i sar. (1973).

Vološćik i Puškarskij (1982) smatraju da individualno držanje nerastića u odgoju nepovoljno utiče na razvoj njihove polne aktivnosti, a da uslovi odgoja ne utiču na njihov rast, veličinu semenika i kvalitet sperme. Uvode se u priplod sa 5,5-6 meseci i masom 75-85 kg, učenjem skoka na fantom. Promena mesta je stimulans, a koristi se i spajanje nerastova iz dva boksa. Sa 11-12 meseci uvode se u redovno korišćenje. Znaci iscrpljenosti su: ejakulati manji od 100 ml, sa manje od 0,1 milijardi/ml spermatozoida i sa više od 10% patoloških spermatozoida.

Harris i Alexander (1999) smatraju da nerastovi treba da se priviknu na nove prostorije za najmanje 3 nedelje pre korišćenja za priplod. Ovo uključuje oporavak od psihofizičke traume zbog premeštanja iz naviknute okoline u nepoznatu, kao i adaptaciju na novi sistem gazdovanja, ishrane i potencijalnih patogena. Klima takođe može biti drugačija. Problemi u adaptaciji su najčešći i najteži kada se svinje iz različitih mesta sjedine zajedno, svinje iz jednog sistema stave u potpuno drugačiji sistem, svinje se premeste iz zdravog stada u oboleli zapat, ili kada se svinje premeste iz jedne u sasvim drugačiju klimu. Tamo gde se praktikuje direktna dostava, problemi sa adaptacijom su obično minimalni. Međutim, u mnogim slučajevima je razborito da se poštuje rutinski program adaptacije. U nekim slučajevima biće potrebno premeštanje potencijalnog priplodnog zapata u mlađoj dobi i lakše telesne mase.

U programu zdravstvene kontrole nerastova primenjuju se sledeće mere:

- vakcinacija, dva puta godišnje, protiv svinjske kuge, crvenog vetra, Aujeskijeve bolesti i parvoviroze (PPV), u martu i septembru;
- serološka kontrola, jednom godišnje, na brucelozu, leptospirozu, transmisibilni gastroenteritis (TGE), listeriozu, parvovirozu i atrofični rinitis, kao i na svinjsku kugu i Aujeskijevu bolest, u periodu mart–april ili oktobar–novembar;
- tuberkulinizacija, jednom godišnje, simultano bovinim i avijarnim tipom tuberkulina.

Lalić i sar. (2003) u dopisu Pokrajinskom sekretarijatu za poljoprivredu, vodoprivredu i šumarstvo Izvršnog veća AP Vojvodine, upućenom 15. 10. 2003. godine predlažu mere za kontrolu zdravstvenog stanja muških priplodnih životinja (nerastova, ovnova i jarčeva). Navode kao obavezne mere:

1. Potrebno je da se obavi klinički pregled zapata i specijalistički klinički androloški pregled priplodnih grla (zdravstveni i reproduktivni aspekt), pre uvođenja u reprodukciju.
2. Potrebno je da nerastovi potiču iz zapata slobodnog od tuberkuloze i da su ispitani na tuberkulozu tuberkulinskim intrakutanom testom, sa negativnim nalazom, koji ne sme biti stariji od 90 dana.
3. Da potiču iz zapata slobodnog od bruceloze i da su ispitani na brucelozu, sa negativnim laboratorijskim nalazom koji ne sme biti stariji od 30 dana.
4. Da imaju negativni laboratorijski nalaz na leptospirozu, koji nije stariji od 30 dana.
5. Da potiču iz zapata koji nema kliničke i patomorfološke znake oboljenja vezane za PRRS, krvavi proliv (*Dysenteria suum*), atrofični rinitis, enzootske pneumonije, Aujeskijeve bolesti i transmisibilnog gastroenteritisa.
6. Da su vakcinisani protiv klasične svinjske kuge (KKS) po programu mera Ministarstva poljoprivrede i vodoprivrede (farmska proizvodnja svinja). Vreme poslednje vakcinacije ne sme biti duže od 90 dana, ni kraće od 21 dan pre kupovine, kao i da je serološki potvrđeno prisustvo specifičnih antitela na KKS.
7. Da su vakcinisani protiv crvenog vetra najranije 90 dana, a najkasnije 21 dan pre kupovine.
8. Da nisu zaraženi šugom.
9. Da životinje po prijemu na odredište obavezno budu u karantinu 30 dana. U tom vremenu obaviće se svi potrebni klinički i laboratorijski ponovni pregledi.

Preporuka:

Na početku polnog korišćenja priplodnih nerastova, i nakon svakih 6 meseci tokom eksploatacije, kao i u slučaju lošijih reproduktivnih pokazatelja, potrebno je da se izvrše laboratorijske analize uzorka native sperme, razređenog semena i prepucijalnog brisa (bakteriološki pregled sa izradom antibiograma i citološko-morfološka ispitivanja).

Optimalne rezerve hranljivih materija, određene konstitucijom i kondicijom, omogućuju životinjama bolje iskorišćavanje hrane, daju višu klaničnu vrednost i

određuju stepen otpornosti i prilagođavanja organizma na delovanje uzročnika bolesti i nepovoljnih faktora sredine. Adaptacija je odlika konstitucije i mora se poboljšavati metodama selekcije i odgovarajućeg odgoja podmlatka. Ustanovljena je pozitivna veza između mesnatosti, kvaliteta mesa i težine nadbubrežne žlezde. U osnovi regulacije procesa reprodukcije, metabolizma i adaptacije su isti fiziološki (endokrini) faktori. Kod priplodnjaka se nepovoljan tok adaptacije ispoljava smanjenjem libida, količine ejakulata i oplodne sposobnosti sperme.

Ubikvitarne bakterije kao *Streptococcus suis*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, mogu biti lokalizovane u testesima nerasta. Virusi, kao PPV i PRRSV, mogu se preneti putem sperme, a u slučaju infekcije utiču na povećan procenat anomalnih spermatozoida, do 13 nedelja nakon infekcije, često bez kliničkih znakova.

Smanjenje reproduktivne sposobnosti kod rasa svinja selekcionisanih na mesnatost, dovodi se u vezu sa osetljivošću na stres, ili izmenjenim potrebama u nekim hranljivim materijama koje su neophodne za normalnu plodnost. Važno je da se uoči početak pojave stresa kod životinja, radi otklanjanja stresora, nepoželjnih faktora spoljne sredine. To su fizički, hemijski ili biološki činioci: velika mikrobiološka opterećenost, negativni faktori mikroklimе, neracionalna ishrana, loša nega, premeštanje životinja, hladna voda za piće i drugi. U profilaksi stresa koriste se trankvilajzeri (injekcioni i u hrani), a traže se i druga rešenja.

Imitacija vremena izlaska i zalaska sunca u periodu maj-juli, promenama u infracrvenom i ultravioletnom spektru i dužinom dnevne osvetljenosti, pokazalo se da su ovi ekološki faktori značajni i kod domaćih rasa svinja. Za neraste je optimalna dužina svetla 16 sati, pa se zimi uvodi dopunsko osvetljavanje od 100 luksa (sijalica od 100-200 W na visini od 1,0 do 1,5 m od leđa životinje), tokom 8 do 9 sati, što povoljno utiče na spermoprodukciju nerasta. Svakodnevним dopunskim veštačkim osvetljenjem nerastova držanih u boksevima, sa 100-150 luksa tokom 8 sati, postiže se pozitivan uticaj na otpornost nerastova i njihovu spermoprodukciju.

Stančić i sar. (2003) nalaze da progresivna pokretljivost spermatozoida u spermi nerastova na našim farmama opada u periodu mart-avgust. Autori iz Litvanije nalaze da procenat patoloških formi spermatozoida raste (6,4-13,9%), a živih spermatozoida opada (78,9-83,0%) u spermi 45 nerastova, sa povećanjem njihove životne dobi. Mladi nerastovi (10-18 meseci) rase pietren su imali manji procenat patoloških spermatozoida i viši procenat živih spermatozoida u odnosu na nerastove rase litvanska bela. U letnjim mesecima nerastovi domaće rase imali su manji procenat patoloških formi spermatozoida, u odnosu na nerastove pietren rase, što autori objašnjavaju boljom otpornošću na atmosferske uticaje.

Jovićin i sar. (2003) izvršili su uporedno ispitivanje 34 uzorka native sperme i 71 uzorka razređenog semena od 16 domaćih i 18 uvoznih nerastova sa 5 velikih farmi u Vojvodini, u toku 2001-2003. godine. Pratili smo određene pokazatelje sperme i dobili sledeće rezultate. Iz uzoraka native sperme domaćih i uvoznih nerastova izolovano je 12 i 21 izolat mikroorganizama, a iz razređenog semena 6 i 13 izolata. Izolati saprofitskih i uslovno patogenih bakterija iz native sperme domaćih

nerastova bili su senzitivni na antibiotike u 8,98% slučajeva i 6,02% iz razređenog semena. Izolati iz native sperme uvoznih nerastova pokazali su senzitivnost u 35,69% slučajeva, odnosno 38,89% iz razređenog semena. Prema morfološkoj analizi spermatozoida, 60% native sperme domaćih nerastova svrstano je u 1. i 2. klasu (33,33% i 26,67%), i 54,54% (42,42% i 12,12%) sperme uvoznih nerastova.

Tabela 1. Rezultati citoloških i fizičkohemijskih analiza sperme domaćih i uvoznih nerastova

Spermatozoidi	Domaći nerastovi		Uvozni nerastovi	
	Nativna sperma	Razređeno seme	Nativna sperma	Razređeno seme
Broj/ml	337,03±4,19 ×10 ⁶	137,03±16,32 ×10 ⁶	448,05±54,84 ×10 ⁶	169,06±20,41 ×10 ⁶
Pokretlj.	51,67±8,09%	52,94±5,64%	56,54±4,43%	52,28±3,89%
Hipoosm. test	21,82±8,49 min.	55,38±15,60 min.	141,28±21,46 min.	81,28±14,64 min.
pH	7,23±0,22	7,24±0,14	5,9-8,5	7,16±0,08
Osmotski pritisak	313,54±5,80 mmol/kg	322,54±6,84 mmol/kg	316,43±1,61 mmol/kg	323,13±5,63 mmol/kg

Tabela 2. Rezultati citološko-morfološke analize sperme domaćih i uvoznih nerastova

% spermatozoida	Domaći nerastovi		Uvozni nerastovi	
	Nativna sperma	Razređeno seme	Nativna sperma	Razređeno seme
Živih	71,33±3,46	72,65±2,30	72,85±2,39	74,69±1,95
Intaktnih akrozoma	59,00±5,64	60,47±4,47	46,61±4,87	45,95±3,89
Oštećenih akrozoma	13,07±2,22	9,70±1,50	10,79±1,73	10,56±1,33
Protoplazm. kapljica	10,67±4,03	9,23±3,25	23,09±4,39	21,02±3,96
Patološke forme	6,07±3,48	8,06±2,88	14,03±3,33	16,79±3,33

Uvozni nerastovi daju kvalitetnije ejakulate native sperme, ali su osjetljiviji na nespecifične infekcije, koje mogu da umanje vitalnost spermatozoida, oštete akrozom, poremete sazrevanje spermatozoida, a time i oplodnu sposobnost razređenog semena.

Za eventualna lečenja kataralnih balanopostitisa i smetnji u spermiogenezi treba imati urađen biogram/antibiogram, da bi se izbeglo nastajanje rezistencije uzročnika.

Netesa (1974) nalazi da se kao pouzdan test reproduktivne sposobnosti nerasta pokazalo poboljšanje uslova ishrane i držanja, u periodu od najmanje jednog meseca, sa 2-3 ponavljanja, uz naknadnu ocenu pokazatelja kvaliteta sperme i polnih refleksa. Grupu nerastova u testu treba da čini najmanje 45-50% nerastova u zapatu. Izrada što prirodnijih uslova za uzimanje sperme, naročito fantoma, veoma je važna mera. Privikavanje nerastova na dobro izrađen fantom moguće je kod 96%, a na loše

izrađen kod oko 50%. Novi fantom je širine 24 cm, izdužen, sa zadnjim krajem prekrivenim penastom gumom, ima ugrađeno grejanje rezervoara sa 10 litara vode, hidraulično daljinsko podešavanje visine i promenljivi zastor, sterilisan za svaki skok.

Rasne svinje imaju genetski uslovljenu visoku produktivnost, ali su vrlo osetljive na delovanje nepovoljnih faktora okolne sredine. Profilaksa stresa je veoma važna.

Dobrobit životinja se definiše kao stanje kompletnog mentalnog i fizičkog zdravlja, kada su životinje u harmoniji sa prirodom. Greške su u ishrani, fizičkom komforu i prisustvu patogena. Zakonski se definišu prioriteti u ovoj oblasti, problemi i uloga farmjera i veterinara, navode English i Edwards (1999).

ZAKLJUČAK

1. Sistem uzgojno-priplodnih i reprodukciono-matičnih centara u proizvodnji priplodnih nerastova daje najbolje rezultate.
2. Smeštaj i ishrana imaju vrlo značajnu ulogu u maksimalnom iskorišćavanju produktivnih svojstava plemenitih rasnih svinja, posebno za duži životni i proizvodni vek uvoznih nerastova.
3. Odgovarajućim mikroklimatskim uslovima može se odstraniti klimatski sterilitet, pa čak i povećati plodnost svinja.
4. Pravilan odgoj priplodnih nerastova, obuka uz odgovarajuće uslove i postupak uzimanja sperme, kroz definisane periode razvoja, važni su zbog kupovine i uvoza životinja u mlađoj dobi.
5. Program zdravstvene kontrole, nadzora i preventive, treba da bude konzistentan, od pripreme i vođenja karantina, kroz sve faze razvoja nerastova i da obavezno obuhvati i zootehničke mere.
6. Uvozni nerastovi daju kvalitetnije ejakulate nativne sperme, ali su osjetljiviji na nespecifične infekcije koje mogu da umanje vitalnost spermatozoida, oštete akrozom, poremete sazrevanje spermatozoida, a time i oplodnu sposobnost razređenog semena.
7. Ekonomski razlozi, selekcijski plan i briga o dobrobiti životinja, nalažu da se posebna pažnja posveti uvoznim nerastovima. To treba da bude veliki stručni izazov za naše stručnjake veterinarske i stočarske struke.

LITERATURA

1. Britt J. H., Almond G. W., Flowers W. L.: Diseases of Reproductive System. In: Diseases of Swine, Barbara E. Straw, Sylvie D'Allaire, William L. Mengeling, David J. Taylor, Ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Science, Iowa State University Press, 1999, 883-911.
2. English P. R., Edwards S. A.: Animal Welfare. In: Diseases of Swine, Barbara E. Straw, Sylvie D'Allaire, William L. Mengeling, David J. Taylor, Ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Science, Iowa State University Press, 1999, 1067-1076.
3. Gordon I.: Controlled Breeding in Farm Animals. Toronto – Sydney – Paris – Frankfurt, Pergamon Press Ltd, 1983.

4. Harris D. L., Alexander T. J. L.: *Methods of Diseases Control*. In: *Diseases of Swine*, Barbara E. Straw, Sylvie D'Allaire, William L. Mengeling, David J. Taylor, Ed., Ames, Iowa, USA: Blackwell Science, Iowa State University Press, 1999, 1077-1110.
5. Hartwig P., Bergferd J.: *Veterinärmedizin und Industriemässige Schweineproduktion*. Jena: Veb Gustav Fischer Verlag, 1975.
6. Hemsworth P. H.: *Behavioral Problems*. In: *Diseases of Swine*, Barbara E. Straw, Sylvie D'Allaire, William L. Mengeling, David J. Taylor, Ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Science, Iowa State University Press, 1999, 645-654.
7. Jovićin M., Stančić B., Đisalo D., Milanov Dubravka, Milovanović A., Došen R.: *Značaj bakteriološke i citološko-morfološke analize sperme uvoznih nerastova*. U: *Zbornik radova*, 15. Savetovanje veterinara Srbije, 9-13. septembra 2003, Zlatibor. Beograd: Srpsko veterinarsko društvo, 2003, 358.
8. Kvasnickij A. V.: *Fiziologija svinje*. In: Dobrohotov G. N., *Svinovodstvo*. Moskva: Kolos, 1974, 116-160.
9. Lalić M., Došen R., Jovićin M.: *Lično saopštenje*, 2003.
10. Lejeune H., Habert R., Saez J. M.: *Journal of Molecular Endocrinology*, 20, 1-25, 1998.
11. *Mala enciklopedija Prosveta*, 4. izdanje, Beograd: Prosveta, 1986.
12. Merkur'eva E. K.: *Aklimatizacija*. In: *Veterinarnaja Enciklopedija*, t.1, Skrjabin K. I. Ed. Moskva: Sovetskaja Enciklopedija, 1968, 98-100.
13. Mitić N., Srećković A., Šljivovački K.: *Svinjarstvo*. Beograd: Nolit, 1973.
14. Netesa A. I.: *Vosproizvodstvo stada*. In: *Svinovodstvo*, Dobrohotov G. N. Ed. Moskva: Kolos, 1974, 369-430.
15. Ovsjanikov A. I.: *Konstitucija svinje*. In: *Svinovodstvo*, Dobrohotov G. N. Ed. Moskva: Kolos, 1974, 161-183.
16. Petrujkić T.: *Reprodukcija i veštačko osemenjavanje svinja*. Beograd: Draganić, 2000.
17. Pond W. G., Houpt K. A.: *The Biology of the Pig*. Ithaca and London: Cornell University Press, 1978.
18. Sarać M., Gagrčin M.: *Molekularna osnova otpornosti i podložnosti svinja na oboljenja*. *Zbornik radova*, I Savetovanje '98, Problemi reprodukcije u intenzivnoj proizvodnji svinja, Arandelovac, 27-30. april 1998. Novi Sad: Poljoprivredni fakultet, 1998, 91-101.
19. Slonim A. D.: *Adaptacija fiziološke*. In: *Veterinarnaja Enciklopedija*, T.1., Skrjabin K. I. Ed. Moskva: Sovetskaja Enciklopedija, 1968, 60-62.
20. Sokolovskaja I. I.: *Iskusstvennoe osemenenie svinje*. Moskva: Sel'hozizdat, 1962.
21. Stančić B., Pivko J., Kubovičova Elena, Grafenau P.: *Savremena poljoprivreda*, 52, 3-4, 263-268, 2003.
22. Studencov A. P., Šipilov V. S., Subbotina L. G., Preobraženskij O. N.: *Klimatičeskoe besplodie*. In: *Veterinarnoe akušerstvo i ginekologija*, Moskva: Kolos, 1980, 396-398.

23. Šerniene Loreta, Riškevičiene V., Banys A., Žilinskas H.: Veterinarija ir Zootechnika. T. 17 (39), 1392-1396, 2002.
24. Vološčik P. D., Puškarskij V. G.: Intenzifikacija reproduktornogo svinovodstva. Moskva: Rossel'hozizdat, 1982.
25. Yurkov V. M., Ščigorec N. E., Pihooa R. I., Vlasov V.V.: Veterinarija, 1, 29-32, 1976.
26. Zabolotnyi I. I.: Soderžanie svinei. In: Svinovodstvo, Dobrohotov G. N. Ed. Moskva: Kolos, 1974, 461-478.

Primljeno: 12. 08. 2008.

Odobreno: 21. 10. 2008.

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 radove, priloge iz prakse, izveštaje sa kongresa i stručnih sastanaka, prikaze knjiga, radove 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 radove 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 evidencioni 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 trgovačkim 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 tabela) po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom jeziku. Koristiti font Times New Roman, veličina slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja. Ukoliko se u tabeli koriste skraćenice treba ih objasniti u legendi ispod tabele.

Grafikoni 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 poledini 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 korišćene 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 tekstom se stavlja iznad tabela, 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 radove, 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, *Bruceloza 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/ 518-008, fax. 021/518-544, e-mail: arhiv@niv.ns.ac.yu

NOTE FOR CONTRIBUTORS

ARCHIVE 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 (bellow 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 (bellow 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, *Bruceloza 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.Trailović, 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/ 518-008, fax. 021/518-544, e-mail: arhiv@niv.ns.ac.yu