ISSN: 2683-5932
ISSN(Online): 2683-5924
Web: http://www.nsveterina.edu.rs/publikacije/casopisi/
Kontakt: vetpregled@gmail.com

~ VETERINARSKI PREGLED ~

NAUČNI ČASOPIS DEPARTMANA ZA VETERINARSKU MEDICINU NOVI SAD

~ VETERINARY REVIEW ~

SCIENTIFIC JOURNAL OF THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE NOVI SAD

Vol 1 **No 1** **Jun/June 2020**

CIP - Каталогизација у публикацији
Библиотеке Матице српске, Нови Сад

619

VETERINARSKI pregled : naučni časopis Departmana za veterinarsku medicinu Novi Sad = Veterinary review : scientific journal of the Department of Veterinary Medicine Novi Sad / glavni i odgovorni urednik Marko Cincović. - Vol. 1, no. 1 (jun 2020)- . - Novi Sad : Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 2020- . - 25 cm

Godišnje. - Dostupno i na: http://www.nsveterina.edu.rs/publikacije/casopisi/ = Veterinarski pregled (Online) = ISSN 2683-5924

ISSN 2683-5932 = Veterinarski pregled

COBISS.SR-ID 14813961

VETERINARSKI PREGLED

Izdavač: Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Glavni i odgovorni urednik: Prof.dr Marko Cincović

Zamenik urednika: Prof.dr Nikolina Novakov

Sekretar: Dr Mira Majkić

Uređivački odbor:

Prof.dr Branislava Belić, Srbija
Prof.dr Dragica Stojanović, Srbija
Prof.dr Romana Turk, Hrvatska
Prof.dr Miodrag Radinović, Srbija
Prof.dr Bojan Toholj, Srbija
Prof.dr Jože Starič, Slovenija
Prof.dr Ivan Stančić, Srbija
Prof.dr Aleksandar Potkonjak, Srbija
Prof.dr Ramiz Ćutuk, BiH
Prof.dr Radojica Đoković, Srbija
Doc.dr Jožica Ježek, Slovenija
Prof.dr Ozren Smolec, Hrvatska
Prof.dr Zdenko Kanački, Srbija
Prof.dr Romeo Teodor Cristina, Rumunija
Prof.dr Bojan Blagojević, Srbija
Prof.dr Plamen Trojačanec, Severna Makedonija
Prof.dr Slavča Hristov, Srbija
Prof.dr Senad Prašović, BiH
Doc.dr Nenad Stojanac, Srbija
Doc.dr Ognjen Stevančević, Srbija

Predsednik izdavačkog saveta: Prof.dr Nedeljko Tica, dekan Poljoprivrednog fakulteta

Izdavački savet:

Prof.dr Nada Plavša
Prof.dr Gordana Uščebrka
Prof.dr Dragan Rogan
Prof.dr Ljubica Spasojević Kosić
Prof.dr Vesna Lalošević
Prof.dr Slobodan Stojanović
Prof.dr Ivana Davidov
Prof.dr Božidar Savić
Doc.dr Mihajlo Erdeljan
Doc.dr Stanislav Simin
Prof.dr Marija Pajić
Doc.dr Jovan Spasojević
Doc.dr Annamaria Galfi
Doc.dr Ljiljana Kuruca
Doc.dr Bojana Vidović
Doc.dr Vuk Vračar
Doc.dr Zorana Kovačević

Predmet časopisa: Časopis objavljuje naučne i stručne radove iz oblasti veterinarske medicine i srodnih disciplina.
Jezik radova: Srpski (sa engleskim apstraktom) ili Engleski (sa srpskim sažetkom) po želji autora.
Periodičnost: Jedna sveska godišnje
Vrste radova: Originalni radovi, Pregledni radovi, Meta-analize, Radovi iz istorije veterinarske medicine, Radovi iz oblasti veterinarskog obrazovanja, Prikaz slučaja, Prikaz tehničkih rešenja, Prikazi knjiga, Naučna kritika, Pisma uredništvu, Izveštaji sa seminara i drugih stručnih događaja.
Format: Časopis izlazi u štampanoj/elektronskoj formi i biće publikovan na sajtu Departmana za veterinarsku medicinu
Prijava radova na mejl: vetpregled@gmail.com

VETERINARY REVIEW

Publisher: Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Editor-in-Chief: Prof.dr Marko Cincović

Deputy Editor: Prof.dr Nikolina Novakov

Secretary: Dr Mira Majkic

Editorial Board:

Prof.dr Branislava Belić, Serbia
Prof.dr Dragica Stojanović, Serbia
Prof.dr Romana Turk, Croatia
Prof.dr Miodrag Radinović, Serbia
Prof.dr Bojan Toholj, Serbia
Prof.dr Jože Starič, Slovenia
Prof.dr Ivan Stančić, Serbia
Prof.dr Aleksandar Potkonjak
Prof.dr Ramiz Ćutuk, BiH
Prof.dr Radojica Đoković, Serbia
Doc.dr Jožica Ježek, Slovenia
Prof.dr Ozren Smolec, Croatia
Prof.dr Zdenko Kanački, Serbia
Prof.dr Romeo Teodor Cristina, Romania
Prof.dr Bojan Blagojević, Serbia
Prof.dr Plamen Trojačanec, North Macedonia
Prof.dr Slavča Hristov, Serbia
Prof.dr Senad Prašović, BiH
Doc.dr Nenad Stojanac, Serbia
Doc.dr Ognjen Stevančević, Serbia

President of the Publishing Council: Prof.dr Nedeljko Tica, Dean of the Faculty of Agriculture

Publishing Council:

Prof.dr Nada Plavša
Prof.dr Gordana Uščebrka
Prof.dr Dragan Rogan
Prof.dr Ljubica Spasojević Kosić
Prof.dr Vesna Lalošević
Prof.dr Slobodan Stojanović
Prof.dr Ivana Davidov
Prof.dr Božidar Savić
Doc.dr Mihajlo Erdeljan
Doc.dr Stanislav Simin
Prof.dr Marija Pajić
Doc.dr Jovan Spasojević
Doc.dr Annamaria Galfi
Doc.dr Ljiljana Kuruca
Doc.dr Bojana Vidović
Doc.dr Vuk Vračar
Doc.dr Zorana Kovačević

Subject of the Journal: The Journal publishes scientific and professional papers in the field of veterinary medicine and related disciplines.
Language: Serbian (with English abstract) or English (with Serbian abstract).
Periodicity: One No per year
Papers: original papers, review articles, meta – analysis, papers from the history of veterinary medicine, papers in the field of veterinary education, case report, technical solutions, book, scientific polemic, letters to the Editor, reports from seminars and other professional events.
For m at: The journal is published in printed and electronic form and will be published on the website of the Department of Veterinary Medicine.
Manuscript submission: vetpregled@gmail.com

DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE
Faculty of Agriculture University of Novi Sad

20 YEAR S ANNIVERSARY
2000-2020

Vivat Medicina Veterinaria Universitatis Studiorum Neoplantensis

Sadržaj

NASTAVNE METODE I KURIKULUM VETERINARSKE MEDICINE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU POLJOPRIVREDNOG FAKULTETA UNIVERZITETA U NOVOM SADU 2000-2020
TEACHING METHODS AND CURRICULUM OF VETERINARY MEDICINE AT THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE, FACULTY OF AGRICULTURE, UNIVERSITY OF NOVI SAD 2000-2020
Branislava Belić, Marko R. Cincović, Nikolina Novakov……...…....10

RAZVOJ SILABUSA I NASTAVNIH METODA IZ PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU POLJOPRIVREDNOG FAKULTETA UNIVERZITETA U NOVOM SADU 2000-2020
DEVELOPMENT OF SYLLABUS AND TEACHING METHODS OF PATHOPHYSIOLOGY AT THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE - FACULTY OF AGRICULTURE- UNIVERSITY OF NOVI SAD 2000-2020
Marko R. Cincović, Branislava Belić……...25

PATOANATOMSKE PROMENE NA PLUĆIMA KOD PNEUMONIJE TELADI
PATNOANATOMICAL CHANGES OF LUNGS IN CALVES WITH PNEUMONIA
Ivana Davidov, Miodrag Radinović, Mihajlo Erdeljan, Zorana Kovačević, Annamaria Galfi……..43

HRONIČNA OBOLJENJA PLUĆA KONJA
CHRONIC LUNG DISEASE IN HORSES
Mihajlo Erdeljan, Ivana Davidov, Miodrag Radinović, Zorana Kovačević, Tijana Kukurić……49

ULTRASONOGRAFIJA VIMENA VISOKOMLEČNIH KRAVA
UDDER ULTRASONOGRAPHY IN DAIRY COWS
Annamaria Galfi, Ivana Davidov, Miodrag Radinović……55

ZNAČAJ PALATABILNOSTI MAGISTRALNIH VETERINARSKI LEKOVA
THE IMPORTANCE OF PALATABILITY OF COMPOUNDED VETERINARY DRUGS
Zorana Kovačević, Dragica Stojanović, Ivana Davidov, Mihajlo Erdeljan, Miodrag Radinović…….....61

BLIZANAČKI ABORTUS KOD KOBILA - PRIKAZ SLUČAJA
TWIN MARE ABORTION - CASE REPORT
Tijana Kukurić, Mihajlo Erdeljan, Ivana Davidov, Milica Veselinović, Ivan Galić……68

INDEKSI INSULINSKE REZISTENCIJE KOD EUGLIKEMIČNIH PASA
INDEXES OF INSULIN RESISTANCE IN EUGLYCEMIC DOGS
Ivana Lakić, Marko R. Cincović, Branislava Belić……..73

VREDNOSTI INDEKSA TEMPERATURE I VLAŽNOSTI VAZDUHA (THI) U SEDAM MERNIH STANICA I PROCENA TOPLOTNOG STRESA KRAVA NA TERITORIJI VOJVODINE
TEMPERATURE HUMIDITY INDEX (THI) IN SEVEN MEASURING STATIONS IN VOJVODINA REGION AND EVALUATION OF HEAT STRESS IN COW
Mira Majkić, Nada Plavša, Marko Cincović, Branislava Belić, Ivana Lakić……...83

MORFOMETRIJSKE OSOBINE ERITROCITA PASA I FAKTORI KOJI NA NJIH UTIČU
FACTOR AFFECTING MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF RED BLOOD CELLS IN DOG
Sandra Nikolić, Branislava Belić, Marko Cincović, Ivana Lakić…….90

DISTRIBUCIJA I POJAVLJIVANJE PLEROCERKOIDA *LIGULA INTESTINALIS* KOD RIBA IZ JEZERA MEĐEŠ
DISTRIBUTION AND OCCURRENCE OF LIGULA INTESTINALIS PLEROCERCOIDS IN THE FISHES FROM MEĐEŠ LAKE
Nikolina Novakov, Ivana Davidov…….....99

UTICAJ ANTI-INFLAMATORNOG EFEKTA NIACINA NA ENZIME JETRE I OKSIDATIVNI STRES KRAVA U RANOJ LAKTACIJI
EFFECTS OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF NIACIN ON LIVER ENZYMES AND OXIDATIVE STRESS OF COWS IN EARLY LACTATION
Kosta Petrović, Dragica Stojanović……105

UTICAJ SEZONE NA KONCENTRACIJU PROTEINA TOPLOTNOG ŠOKA HSP70 U KRVI KRAVA
EFFECT OF SEASON ON HEAT SHOCK PROTEINS HSP70 CONCENTRATION IN COWS BLOOD
Miloš Ž. Petrović, Radojica Đoković, Zoran Ž. Ilić, Simeon Rakonjac, Snežana Bogosavljević Bošković, Vladimir Kurćubić, Milun D. Petrović……..112
.
NALAZ RETENCIJE ŽUMANČANE KESICE PAČIĆA MANDARINSKE VRSTE *(AIX GALERICULATA)*
FINDING OF THE RETENTION OF THE YELLOW PACKAGE OF THE MANDARIN DUCK (AIX GALERICULATA)
Vladimir Prokić, Ivana Davidov, Nikolina Novakov, Bojana Vidović……..121

UTICAJ UZROČNIKA MASTITISA NA PROIZVODNJU MLEKA KOD KRAVA
INFLUENCE OF CAUSES OF MASTITIS ON MILK PRODUCTION IN COWS
Miodrag Radinović, Ivana Davidov, Zorana Kovačević, AnnaMaria Galfi,
Marija Pajić, Mihajlo Erdeljan, Jovan Stanojević……..127

RAZVOJ VASKULARNE MREŽE HORIOALANTOISNE MEMBRANE KOD TOVNIH PILIĆA I NJEN ZNAČAJ U BIOMEDICINSKIM ISTRAŽIVANJIMA
DEVELOPMENT OF THE VASCULAR SYSTEM OF THE CHORIOALLANTOIC MEMBRANE IN BROILER CHICKENS AND ITS IMPORTANCE IN BIOMEDICAL RESEARCH
Zoran Ružić, Zdenko Kanački, Slobodan Stojanović, Srđan Todorović ……...133

KONCENTRACIJA KALCIJUMA, NEORGANSKOG FOSFORA I MAGNEZIJUMA U KRVI KRAVA U TOPLOTNOM STRESU
CONCENTRATION OF BLOOD CALCIUM, INORGANIC PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN COWS DURING HEAT STRESS
Jovan Stanojević, Miodrag Radinović……140

UTVRĐIVANJE PRISUSTVA I RAŠIRENOSTI PCV-2 INFEKCIJE KOD DIVLJIH SVINJA U SRBIJI
DETERMINING THE PRESENCE AND SPREAD OF PCV2 INFECTION IN WILD SWINE IN SERBIA
Ognjen Stevančević, Nenad Stojanac, Božidar Savić, Aleksandar Potkonjak, Ivan Stančić, Ivana Davidov ……..147

IN VITRO OVICIDAL EFFECT OF COMMON JUNIPER (*JUNIPERUS COMMUNIS L.*) ESSENTIAL OIL ON SHEEP GASTROINTESTINAL NEMATODES
IN VITRO OVICIDAN EFEKAT ETARSKOG ULJA KLEKE (JUNIPERUS COMMUNIS L.) NA GASTROINTESTINALNE NEMATODE OVACA
Filip Štrbac, Antonio Bosco, Alessandra Amadesi, Laura Rinaldi, Dragica Stojanović, Nataša Simin, Dejan Orčić, Ivan Pušić, Slobodan Krnjajić, Radomir Ratajac…….....152

PRIKAZ SLUČAJA HIRURŠKE SANACIJE BILATERALNE FRAKTURE LAKATOG ZGLOBA KOD PSA
SURGICAL REPAIR OF THE BILATERAL FRACTURE OF THE LIGHT JOINT IN THE DOG – CASE REPORT
Bojan Toholj, Jovan Spasojević, Ivan Galić, Ivan Stančić ……....160

MEGABAKTERIOZA KOD TIGRICA I NIMFI – PRIKAZ SLUČAJA
MEGABACTERIOSIS IN BUDGERIGARS AND COCKATIEL- CASE REPORT
Bojana Vidović, Nikolina Novakov……164

Redosled radova u sadržaju postavljen po abecednom redu prvog slova prezimena prvog autora rada.

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 378.147
Belić et al., pp 10-24

NASTAVNE METODE I KURIKULUM VETERINARSKE MEDICINE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU POLJOPRIVREDNOG FAKULTETA UNIVERZITETA U NOVOM SADU 2000-2020

TEACHING METHODS AND CURRICULUM OF VETERINARY MEDICINE AT THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE, FACULTY OF AGRICULTURE, UNIVERSITY OF NOVI SAD 2000-2020

Branislava Belić[a]*, Marko R. Cincović[a], Nikolina Novakov[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu – Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
[a]*Department of veterinary medicine – Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
**Autor za kontakt: drbbelic@gmail.com, +381214853516*

SAŽETAK

Departman za veterinarsku medicinu osnovan je 2000. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu. Organizovan je kao jedinstvena celina i objedinjava poslove nastave, zdravstvene zaštite životinje, naučno-istraživačkog rada, laboratorijske analize i edukacije veterinarskih kadrova. Departmani predstavljaju osnovnu obrazovnu-naučnu i stručnu jedinicu Fakulteta. U ovom radu su opisani kurikulumi integrisanih, specijalističkih i doktorskih studija veterinarske medicine. Definisani su svrha, ciljevi i ishodi učenja na dodiplomskim studijama i opisane su nastavne metode i nastavni kapaciteti za realizaciju nastave, posebno u oblasti sticanja specifičnih znanja i veština. U radu se posebno ističe i predstavlja da je veterinarska medicina regulisana profesija, što znači da su predmeti, njihovi sadržaji i ciljevi i ishodi učenja strogo regulisani nacionalnim i međunarodnim standardima kvaliteta. Departman za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu je u protekle prošao dvodecenijski razvojni put i postigao je cilj da se studenta stavi u centar nastavnog rada, a kompetence u centar kurikuluma veterinarske medicine.

KLJUČNE REČI: nastavne metode, komeptencije, kurikulum, veterinarska medicina.

ABSTRACT

The Department of Veterinary Medicine was founded in 2000 at the Faculty of Agriculture, University of Novi Sad. It is organized as a single unit and integrates teaching, animal health care, scientific research, laboratory analysis and veterinary staff training. Departments represent the basic educational-scientific and professional unit of the Faculty. This paper describes the curricula for integrated, specialist and doctoral studies in veterinary medicine. The purpose, goals and outcomes of the undergraduate study are then defined and the teaching methods and teaching capacities for the realization of teaching are described, especially in the area of acquiring specific knowledge and skills. The paper emphasizes the

fact that veterinary medicine is a regulated profession, which means that subjects, their contents and goals and learning outcomes are strictly regulated by national and international quality standards. In the past two decades, the Department of Veterinary Medicine at the Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, has developed a path that aims to place the student in the center of teaching and competences in the center of the veterinary medicine curriculum.

KEY WORDS: teaching methods, competences, curriculum, veterinary medicine.

OSNIVANJE I ORGANIZACIJA DEPARTMANA ZA VETERINARSKU MEDICINU

Departman za veterinarsku medicinu osnovan je 2000. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu. Organizovan je kao jedinstvena celina i objedinjava poslove visokog obrazovanja, zdravstvene zaštite životinje, naučno-istraživačkog rada i kontinuirane edukacije veterinarskih kadrova. Važni datumi u osnivanju i razvoju studijskog programa veterinarske medicine: *1999 godina* – izrada Elaborata o opravdanosti osnivanja smera veterinarska medicina na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu (1); *21. januar 2000.godine* – na desetoj redovnoj sednici Upravnog odbora Poljoprivrednog fakulteta usvojen je Elaborat o opravdanosti osnivanja smera veterinarska medicina (dokument broj 06/0102 broj: 60/3-1); *21.mart 2000* – na prvoj vanrednoj sednici Upravnog odbora Poljoprivrednog fakulteta usvojene su izmene Statusa Poljoprivrednog fakulteta u koji je uvršten smer veterinarske medicine kao jedan od smerova; *19.jun 2000* – Vlada R.Srbije na osnovu Zakona o Univerzitetu daje saglasnost na Odluku o izmenama i dopunama Statusa Poljoprivrednog fakulteta, a time su stečeni uslovi za upis brucoša na studijskom programu veterinarska medicina; *Oktobar 2000* – upisana prva generacija brucoša veterinarske medicine; *Godina 2002* – interna reorganizacija i osnivanje Departmana za veterinarsku medicinu; *Jun 2008* – u skladu sa zakonom akreditovane osnovne i doktorske studije veterinarske medicine, zbog kvaliteta broj studenata koje primamo smanjen sa 100 na 60 studeanta; *Decembar 2013* – transformisanje kurikuluma veterinarske medicine prema direktivi 35/2006 EK i ponovna akreditacija integrisanih i doktorskih studija veterinarske medicine; *Jun 2017* – otvaranje veterinarske klinike i laboratorija na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u kampusu Univerziteta u Novom Sadu; *Godina 2018* – Osnivaju se mnoge laboratorije kao dijagnostički servis i podrška kliničkom, nastavnom i istraživačkom radu; Bivši institut za VO u Temerinu je dodeljen Poljoprivrednom fakultetu, gde se formira nacionalni obrazovno-istraživački centar – *Agrocampus*; *Godina 2019* – U novom ciklusu akreditacije pored integrisanih i doktorskih akreditovane po prvi put i specijalističke akademske studije; Univerzitet u Novom Sadu drugu godinu za redom među 300 najboljih na svetu u oblasti veterinarske medicine na prestižnoj Šangajskoj listi; *Godina 2020* – Završena treća nacionalna akreditacija, pored integrisanih i doktorskih akreditovane su i specijalističke akademske studije; Laboratorija za patološku fiziologiju pokazuje dobre rezultate u eksternoj kontroli kvaliteta i planira akreditovanje metoda prema ISO standardima (2).

Departmani predstavljaju osnovnu obrazovnu-naučnu i stručnu jedinicu Fakulteta. Od osnivanja do danas, veterinu je studiralo više od 1300, a diplomiralo je 500 studenata. Posebno ističemo da postoji, za naše prilike, velika zainteresovanost sredjoškolaca za studiranje veterinarske medicine, pa se svake godine prijavi daleko veći broj studenata od broja predviđenih budžetom. Ovaj veliki broj prijavljenih nam

daje mogućnost kvalitetne selekcije studenata na prijemnom ispitu. Titulu doktora nauka steklo je 60 kandidata, a mnogi od njih obavljaju važne poslove i funkcije u poslovima nadzora bolesti životinja, veterinarskoj edukaciji, strukovnim udruženjima veterinara i drugo. Na Departmanu je realizovano više projekata Pokrajinskog sekretarijata za nauku AP Vojvodine, Ministarstva prosvete i nauke Srbije, Ministarstva poljoprivrede/uprave za veterinu Srbije, Fonda za inovacionu delatnost Srbije, Fonda za nauku Srbije ali i FP6, TEMPUS, COST, ERAZMUS+ i drugi međunarodni projekti multilateralnog i bilateralnog tipa (preko 50 projekata). Studije veterinarske medicine realizuje preko 70 nastavnika i saradnika, a najveći broj časova daju nastavnici veterinarske struke (preko 90%). Naši istaknuti nastavnici su članovi akademije veterinarske medicine SVD ili medicinskih nauka SLD, a pojedinci su obavljali ili obavljaju društveno odgovorne funkcije. Nastavnici i saradnici Departmana su aktivni članovi Srpskog veterinarskog društva i Veterinarske komore Srbije. Zaposleni su objavili preko 3000 bibliografksih jedinica u vidu udžbenika, članaka u naučnim časopisima i drugih rezultata. Kurikulum veterinarske medicine u potpunosti je usklađen prema direktivi 35/2006 EK, koja je sastavni deo standarda koje propisuje KAPK i EAEVE. Departman je više puta bio organizator i suorganizator stručnih skupova (preko 25 aktivnosti), koji se odnose na kontinuiranu edukaciju veterinara, a konstantno ulaže u razvoj nastavnih i istraživačkih kapaciteta i kapaciteta za pružanje usluga privredi koji se, kao u retko kojoj struci, tesno prepliću i usko su povezani (2).

Organizacija Departmana definisana je Statutom Poljoprivrednog fakutleta (3-5). *Departmani obavljaju sledeće poslove:*- organizuju i realizuju nastavni proces a naročito se staraju o: međusobnoj usklađenosti sadržaja predmeta na studijskom programu; literaturi i njenoj raspoloživosti, kao i usklađenosti sa sadržajem predmeta; načinu realizacije predavanja i vežbi po programskim sadržajima; načinu realizacije provere znanja; ukupnim obavezama studenata u smislu ESPB sistema na predmetnom studijskom programu, - iniciraju nove i izmenu postojećih studijskih programa na studijama prvog, drugog i trećeg stepena predmetnog studijskog programa i iste dostavljaju Nastavno-naučnom veću Fakulteta, - vrše evaluaciju i analizu studijskih programa prvog i drugog stepena predmetnog studijskog programa,- obavljaju sve poslove vezane za planiranje, organizovanje i razvoj resursa departmana (planiranje potrebe departmana za zapošljavanjem odnosno angažovanjem izvršilaca, pravljenje sredoročnih i operativnih planova razvoja i stručnog usavršavanja, planiranje prostora i dr.), - planiraju, iniciraju i realizuju istraživačke i razvojne projekte, - predlažu naučnoistraživačke programe i projekte, obavljaju transfer tehnologije i brinu za realizaciju istih, - predlažu Veću razne vidove obrazovanja i usavršavanja nastavnika i saradnika u zemlji i inostranstvu, - predlažu predloge i programe za međunarodnu saradnju i druge oblike saradnje,- obavljaju i druge poslove utvrđene Statutom i drugim opštim aktima Fakulteta.

Organi departmana su: direktor i Nastavno-naučno veće. Departmanom rukovodi direktor koga imenuje i razrešava dekan Fakulteta iz reda nastavnika. Mandat direktora departmana traje tri školske godine. Nastavno-naučno veće departmana čine direktor departmana, šef/ovi katedri, upravnik instituta, dva člana iz reda nastavnika i naučnih radnika koje biraju nastavnici, naučni radnici, saradnici i asistenti na period od tri školske godine, u skladu sa poslovnikom departmana koji se usvaja na prvoj sednici koju saziva direktor departmana. Direktor departmana predsedava Nastavno-naučnom veću departmana.

Unutrašnje organizacione jedinice Departmana: katedre, instituti, klinike, laboratorije. Katedre su organizacione jedinice Fakulteta, koju čine nastavnici i

saradnici birani za užu naučnu oblast iz delokruga katedre. Članovi katedre realizuju nastavu iz nastavnih predmeta, koji na osnovu srodnosti odnosno sličnosti i međusobne povezanosti pripadaju katedri.Katedra se formira za najmanje jednu užu naučnu oblast. Jedna uža naučna oblast pripada samo jednoj katedri. Članovi katedre odlučuju na sednici na način utvrđen poslovnikom, koji se donosi na prvoj sednici katedre, koju saziva šef katedre. Katedre obavljaju sledeće poslove: - prate realizaciju nastavnog procesa iz predmeta koje im pripadaju na različitim studijskim programima i na različitim departmanima, - vrše evaluaciju nastavnog procesa i predlažu mere za poboljšanje njegovog kvaliteta na predmetima koje realizuju, - predlažu nove odnosno ili promene postojećih studijskih planova i programa, iz delokruga predmeta koji im pripadaju, - predlažu pokretanje postupka za izbor u zvanje nastavnika i saradnika za uže naučne oblasti koje pokrivaju i predlažu Izbornom veću komisije za pisanje izveštaja o prijavljenim kandidatima, - razmatraju i odobravaju teme završnih radova na osnovnim studijama prvog stepena iz užih naučnih oblasti koje pokrivaju i imenuju mentora i članove komisije, - razmatraju prijave završnih radova na integrisanim studijama i studijama drugog stepena, imenuju mentora i članove komisije za ocenu podobnosti teme za izradu završnog rada, - razmatraju i preliminarno odobravaju prijave doktorskih radova iz užih naučnih oblasti, koje predaju, za koje su zaduženi i predlažu mentora i članove komisije Veću Fakulteta, - predlažu raspored nastavnika i saradnika po predmetima u okviru užih naučnih oblasti koje im pripadaju, - predlažu literaturu i način provere znanja studenata po predmetima u okviru užih naučnih oblasti koje im pripadaju, - predlažu koordinatore ESPB sistema na studijama prvog stepena, kao i drugog i trećeg stepena ukoliko su usmerenja obrazovana na tim nivoima studija, - predlažu rukovodioce studijskih programa, - staraju se o vođenju doktorskih studija, - obavljaju i druge poslove utvrđene Statutom i drugim opštim aktima Fakulteta. Radom katedre rukovodi šef katedre koga imenuje i razrešava dekan Fakulteta, na predlog članova katedre. Mandat šefa katedre traje tri školske godine. Katedra može imati sekretara katedre, kojeg biraju članovi katedre većinom glasova svojih članova. Sekretar katedre vodi evidenciju aktivnosti katedre, zapisnik sa sednice katedre, stara se o pripremi materijala za sednice i o sprovođenju odluka. Institute čine nastavnici, naučni radnici i saradnici zaposleni u departmanu. Institutom rukovodi upravnik koga na predlog direktora departmana imenuje dekan na period od tri godine.Instituti obavljaju sledeće poslove:- planiraju, iniciraju i realizuju istraživačke i razvojne projekte,- predlažu naučnoistraživačke programe i projekte i obavljaju transfer tehnologije i brinu se za realizaciju istih. Klinike - Na Departmanu za veterinarsku medicinu je organizovana Veterinarska klinika, na kojoj su nastavnici, naučni radnici i saradnici sa tog Departmana. Klinikom rukovodi upravnik koga na predlog direktora Departmana imenuje dekan na period od tri godine.Klinika se sastoji od četiri organizacione jedinice: klinike za hirurgiju; klinike za unutrašnje bolesti; klinike za porodiljstvo i ambulantne mobilne klinike. Klinika obavlja sledeće poslove: - edukacija studenata na integrisanim studijama veterinarske medicine, specijalističkim akademskim i doktorskim akademskim studijama; - realizacija poslova po naučnoistraživačkim projektima; - pružanje baze nastavnicima, saradnicima i istraživačima za obavljanje naučnoistraživačkog rada; - osposobljavanje i realizacija praktične nastave za stažiste, specijalizante, doktorante i vršenje usluga iz domena veterinarske medicine. Bliži uslovi u pogledu organizacije poslova i delokruga rada klinike utvrđuju se posebnim opštim aktom Fakulteta. *Ostale organizacione jedinice departmana (laboratorije, centri, ogledna dobra)* - obavljaju poslove u skladu sa pravilnikom koji donosi Savet fakulteta na predlog organizacione jedinice uz saglasnost dekana. Radom organizacione jedinice

rukovodi lice koje imenuje dekan na predlog direktora departmana. Akreditovane laboratorije od strane nacionalnog ili međunarodnog akreditacionog tela obavljaju poslove u skladu sa obimom akreditacije i poslovnikom o kvalitetu laboratorije. Radom laboratorije rukovodi šef/upravnik laboratorije koga imenuje dekan na predlog direktora departmana.

STRUKTURE STUDIJSKIH PROGRAMA INTEGRISANIH, SPECIJALISTIČKIH I DOKTORSKIH STUDIJA VETERINARSKE MEDICINE

Kurikulum veterinarske medicine sadrži sve značajne elemente, neophodne za postojanje jednog kurikuluma (6) i to: a) sadržaj učenja (predmetni pregled, plan i program, silabus); produkt učenja (kurikulum se bavi onim što su ishodi učenja, odnosno onim čime će se student baviti tokom učenja i potom); plan učenja (ciljevi i ishodi učenja, strategije učenja, proces u kojem se odvija učenje, ocenjivanje postignutog gradiva) i iskustvo učenja (kada kurikulum predstavlja seriju svesno usmerenih iskustava obuke, koju škola koristi za razvoj i usavršavanje pojedinca). Pored navedenog, kurkulum veterinarske medicine je usmeren na kompetence, pa zbog toga ima sledeće karakterstike (7): a) kompetence su zasnovane na analizi profesionalne uloge i prema shvatanju profesionalne odgovornosti, b) iskaz o kompetenciji opisuje ishode učinka perofesionalno srodnih znanja, veština i stavova, c) iskaz o kompetenciji omogućuje ocenjivanje zasnovano na kriterijumu, d) kompetence prestavljaju prioritet u nastavi, e) nastavni program su izvedeni iz kompetecija i povezani su sa njima, f) napredovanje učenika se određuje na osnovu demonstracije kompetencija, g) obim napredovanja poznat je studentu tokom programa, h) kompetencije se mere u skladu sa iskazom o kompetencijama, i) mere i standardi za procenu kompetencija su javni i prioritetni su u nastavi, j) nastavnici pokušavaju da modeluju poželjne stavove i ponašanje učenika i k) program se planira i realizuje kao potpuno integrisan sistem.

Naziv studijskog programa integrisanih akademskih studija je Veterinarska medicina. Akademski naziv koji se stiče je Doktor veterinarske medicine (8). Ishod studija su kompeticije koje studentima omogućuju primenu stečenog znanja u obavljanju poslova, koji se odnose na problem, koji se javljaju u struci, praksi i naučno-istraživačkom radu. Integrisane akademske studije veterinarske medicine traju 6 godina. Struktura i sadržaj programa su koncipirani na osnovu savremenih naučnih i stručnih znanja i iskustava u ovoj oblasti kao i na osnovu zahteva Evropske asocijasije veterinarskih visokoškolskih ustanova (EAVE) i na principima bolonjskog procesa. Programi svih predmeta su definisani na osnovu savremenih naučnih i stručnih dostignuća. Već od prve godine studija studentima se pruža mogućnost, da se prema sopstvenim željama, pored obaveznih predmeta, odluče i za izborne predmete što im omogućava dobijanje širih znanja. U 11. semestru pored zajedničkih predmeta studenti biraju jedan od ponuđena tri modula i to: bezbednost hrane, klinička patologija i terapija farmskih životinja i konja i klinička patologija i terapija kućnih ljubimaca, a u okviru modula pored obaveznih postoje i izborni predmeti. U 12. semestru studenti obavljaju obaveznu stručnu praksu i obavljaju istraživački rad koji je vezan za istraživanja na diplomskom radu i vrše izradu diplomskog rada. Nastavni proces se odvija kroz teorijski i praktični oblik nastave. Posebna pažnja je usmerena na praktične vežbe (u laboratorijama fakulteta, kao i na industrijskim farmama, mlekarama, industrijama mesa, u stručnim službama, veterinarskim ambulantama, naučnim institutima itd.). Za nastavu se koriste savremena nastavna sredstva, učila i pomagala (preparati, modeli, slike, video-filmovi, animacije, šeme). Sadržaji predmeta se predaju usmenim izlaganjem, demonstracijama, prezentacijama, praktičnim radom, pisanjem seminarskih radova, konsultacijama i slično. Podstiče se

samostalni i grupni rad studenata. Aktivnost studenata se kontinuirano prati i vrednuje. Broj osvojenih bodova je iskazan prema jedinstvenoj metodologiji. Studijski program integrisanih studija veterinarske medicine, formiran je u skladu sa sledećim principima: Integrisane studije veterinarske medicine traju 6 godina (12 semestara), Jedna školska godina traje 12 meseci, podeljena je na 2 semetra, Broj predmeta po semestru je 7 ili 8 a u okviru modula 6 ili 7, Nastava, u toku jednog semestra, traje 15 nedelja, Student je opterećen aktivnom nastavom do 30 časova tokom jedne radne nedelje, Integrisane studije imaju ukupno 360 ESPB, 60 po godini, (30 po svakom semestru), Ukupan broj ESPB, za svaki predmet definisan je na osnovu obima predmeta i vremena potrebnog da bi se on mogao savladati. Ocenjivanje studenata se izvodi ocenama od 5-10. Obezbeđeno je kontinuirano praćenje i analiziranje uspešnosti studiranja. Predviđeno je ocenjivanje kvaliteta studijskog programa, kvaliteta izvođenja nastave, kvaliteta nastavnika, adekvatnosti prostorija, opreme itd. Predmeti su podeljeni na obavezne, ukupno 75 (4 predmeta: Veterinarska fiziologija I i II, Farmakologija i toksikologija I i II, Bolesti pasa i mačaka I i II i Higijena mesa I i II se polažu nakon odslušana 2 semestra), i izborne, ukupno 48, Nastava se izvodi u adekvatnim amfiteatrima, učionicama, vežbaonicama, fakultetskim klinikama, kao i na proizvodnim stočarskim farmama, u mlekarama, klanicama, u stručnim veterinarskim službama i naučnim institutcijama, te u okviru van fakultetske nastavne baze Inovacioni centar Agrokampus – Temerin. U 12 semestru studenti obavljaju praksu u laboratorijama, klinikama, veterinarskim ambulantama, farmama, ergelama, klanicama, mlekarama i dr., pod nadzorom predmetnih nastavnika. U ovom semestru studenti obavljaju i studijski istraživački rad, koji im je osnova za odabir teme i izradu i pisanje diplomskog rada.

Osnovna karakteristika integrisanih studija, posmatrajući od 2000 godine do danas je da je kurikulum do 2013.godine bio petogodišnji a u drugoj akreditaciji akreditovan šestogodišnji program. Razlog za prelazak na šestogodišnje studije je što se po standardu kvaliteta sve studentske aktivnosti moraju odvijati pod nadzorom nastavnika pa tako i studentska praksa. U poslednjem semestru studenti imaju 300 sati prakse, a to je bio ujedno i naš odgovor na studentske ankete, čiji su rezultati pokazivali da studenti uvek žele više prakse i bližu saradnju sa profesorima i saradnicima. Pored navedenog, da bi podigli nivo kvaliteta broj studenata, koje upisujemo na prvu godinu je sa 100 studenata smanjen na 60, da bi postigli rad u malim grupama i bolju kontrolu studentskog rada, odnosno kontrolu i merenje postizanja ciljeva i ishoda učenja. Potrebno je znati da bez obzira na navedene promene kurikulum veterinarske medicine uvek sadržao predmete, koji su se prema standardima morali nalaziti u koru kurikuluma. Veterinarska medicina je regulisana profesija, što znači da je propisano sve što veterinari rade i na koji način to rade, ali je propisano i šta sve veterinari uče tokom svog univerzitetskog obrazovanja. Na nivou Evrospke unije izdata je direktiva 2005/36/EC o prepoznavanju profesionalnih kvalifikacija (9), gde je navedeno šta je to što se u veterinarskim visokoškolskim ustanovama mora izučavati. Pored navedenog, EAEVE je u svoj poslednjem SOP-u (10) napravio usavršenu listu predmeta koji se moraju izučavati na dodiplomskim studijama veterinarske medicine, da bi se postiglo potrebno znanje i veštine doktora veterinarske medicine na dan diplomiranja. Predmeti se klasifikuju na osnovne predmete i specifične veterinarske predmete, dok se specifični dalje dele na: osnovne nauke, kliničke nauke i nauka o bezbednosti hrane i javnog zdravlja. Osnovni predmeti su: Medicinska fizika, Hemija (neorganske i organske sekcije), Životinjska biologija, zoologija i ćelijska biologija, Hranljive i otrovne biljke i Biomedicinska statistika. Osnovne nauke u okviru veterinarskih predmeta su: Anatomija, histologija i embriologija, Fiziologija, Biohemija, Opšta i molekularna genetika,

Farmakologija, farmacija i farmakoterapija, Patologija, Toksikologija, Parazitologija, Mikrobiologija, Imunologija, Epidemiologija, Informacijska pismenost i upravljanje podacima, Profesionalna etika i komunikacija, Ekonomika i upravljanje zdravstvenom zaštitom životinja, Etologija životinja i Dobrobit životinja i Ishrana životinja. U kliničke veterinarske predmete se ubrajaju: Akušerstvo, reprodukcija i reproduktivni poremećaji, Klinička patologija, Terapija, Hirurgija, Anesteziologija, Klinička praktična obuka o uobičajenim životinjskim vrstama, Preventivna medicina, Imejdžing dijagnostika, Terapija uobičajenim životinjskim vrstama, Propedeutika uobičajenih životinjskih vrsta, Animalna proizvodnja, uključujući uzgoj, stočarstvo i ekonomiju; Upravljanje zdravljem stada. U oblast bezbednost i kvalitet hrane, veterinarsko javno zdravlje i koncept jednog zdravlja ubrajaju se predmeti: Veterinarsko zakonodavstvo, uključujući zvanične kontrole, regulatorne veterinarske službe, sudsku veterinarsku medicinu i sertifikaciju, Kontrola hrane i životinjskih nusproizvoda, Zoonoze, Higijena hrane i mikrobiologija hrane i Tehnologija hrane.

Naziv studijskog programa je specijalitičke akademske studije veterinarske medicine. Vrsta programa: specijalističke akademske studije. Akademski naziv koji se stiče prema okviru kvalifikacija je specijalista doktor veterinarske medicine (spec.dr vet.med.) (11). Cilj studijskog programa je produbljivanje i unapređenje znanja i veština iz pojedinih oblasti veterinarske medicine, da bi se dobili usko specijalizovani stručnjaci za pružanje specijalističkih usluga u oblasti veterinarske medicine kliničke patologije i terapije životinja, preventivne veterinarske medicine, biotehnologije, reprodukcije i higijene i tehnologije namirnica animalnog porekla. Specijalizacije su dodatno prepoznate kroz Zakon o veterinarstvu i pravila dobre veterinarske prakse propisane od strane nacionalnih i EU regulatornih tela. Nastava se obavlja na fakultetu, u okviru laboratorija i klinika fakulteta i u okviru vanfakultetske nastavne baze Inovacioni centar Agrokampus – Temerin. Uslovi za upis studijskog programa su završene studije veterinarske medicine sa najmanje 300 ESPB bodova i zauzimanje pozicije na rang listi posle rangiranja u skladu sa pravilnikom. Nastavni proces se odvija kroz teorijski i praktični oblik nastave. Posebna pažnja je posvećena praktičnim vežbama (u laboratorijama fakulteta, kao i na industrijskim farmama, mlekarama, industrijama mesa, u stručnim službama, veterinarskim ambulantama, naučnim institutima itd.). Za nastavu se se koriste savremena nastavna sredstva, učila i pomagala (preparati, modeli, slike, video-filmovi, animacije, šeme). Nastavni program se predaje usmenim izlaganjem, demonstracijama, prezentacijama, praktičnim radom, pisanjem seminarskih radova, konsultacijama, i slično. Podstiče se samostalni i grupni rad studenata. Aktivnost studenata se kontinuirano prate i vrednuju. Broj osvojenih bodova je iskazan prema jedinstvenoj metodologiji.Studijski program specijalističkih studija veterinarske medicine, formiran je u skladu sa sledećim principima: Specijalističke akademske studije veterinarske medicine traju 1 godinu (2 semestra). Nastava u toku jednog semestra, traje 15 nedelja, Student ima aktivnu nastavu do 30 časova tokom jedne radne nedelje. Specijalističke studije imaju ukupno 60 ESPB (25 u prvom semestru i 35 u drugom semestru). U prvom i drugom semestru studenti imaju jedan obavezni predmet (po 4ESPB) i tri izborna predmeta (po 7 ESPB), a u drugom semestru imaju obavezan završni rad koji je podeljen na specijalistički rad - predmet završnog rada i specijalistički rad (5+5 ESPB), Tri izborna predmeta biraju se sa liste od 10 predmeta. Predmeti su koncipirani i podeljeni po semestrima tako da student ima kontinuitet u odnosu na oblast za koju se opredelio da pohađa i završi specijalističke akademske studije. Nema preduslova za upisivanje pojedinih predmeta a ocenjivanje studenata, se izvodi ocenama od 5-10. Obezbeđeno je kontinuirano praćenje i analiziranje

uspešnosti studiranja a predviđeno je ocenjivanje kvaliteta studijskog programa, kvaliteta izvođenja nastave, kvaliteta nastavnika, adekvatnosti prostorija, opreme i dr., u skladu sa pravilnicima. Nastava se izvodi u adekvatnim amfiteatrima, učionicama i vežbaonicama na fakultetu, kao i na proizvodnim stočarskim farmama, u mlekarama, klanicama, u stručnim veterinarskim službama i naučnim institutcijama.

Studije na doktorskim studijama veterinarske medicine se izvode kroz predavanja, studijski istraživački rad i naučni rad (12). Studijski program uključuje 2 obavezna i 8 izbornih predmeta, koje studenti biraju sa liste od 59 ponuđenih izbornih predmeta. Fond aktivne nastave je 40 časova u prvoj godini, 42 časa u drugoj godini i 40 časova u trećoj godini (ukupno 122 časa), a od toga je 32 časova teorijske nastave (što iznosi 26.7% od ukupnih časova) i 90 časova studijskog istraživačkog rada u okviru svakog od predmeta. Svaka godina nosi po 60 ESPB bodova (ukupno 180 ESPB bodova za tri godine). Rad doktoranata tokom svakog semestra uključuje istraživački rad pod nadzorom savetnika/mentora, koji podrazumeva istraživački rad na odabranom naučnom projektu, izbor teme za doktorsku disertaciju i pregled literature. U poslednjoj, trećoj godini, studijski istraživački rad sa mentorom je usmeren na izradu doktorske disertacije (obrada i analiza podataka istraživanja kao i oblikovanje i pisanje doktorske disertacije). Ukupne aktivnosti istraživačkog rada sa mentorom na studijskom programu vrednuju se sa 76 ESPB bodova, dok je dodatno 20 ESPB bodova predviđeno za istraživački rad za izradu doktorske disertacije. Aktivnost odbrane doktorske disertacije vrednuje se sa 20 ESPB bodova. Dva obavezna predmeta se vrednuju sa ukupno 8 ESPB bodova (svaki po 4 ESPB), izborni predmeti u bloku 1 i 2 po 6, a izborni predmeti u bloku 3 i 4 po 8 bodova, što ukupno za sve predmete iznosi 64 ESPB boda. Za svaki predmet dat je opis: uslovi, cilj, ishod i sadržaj, studijsko istraživački rad, literatura, broj časova nastave, broj ESPB bodova, metode izvođenja nastve, predispitne obaveze, način vrednovanja znanja, kao i ime nastavnika zaduženih za izvođenje nastave i ispit. Bliži uslovi za postupak izrade doktorske disertacije, način prijave i odbrane, nalaze se u Pravilnicima doktorskih studija Poljoprivrednog fakulteta i Univerziteta u Novom Sadu.

SVRHA I CILJEVI DODIPLOMSKIH STUDIJA I KOMPETENCIJE STUDENATA PO STICANJU DIPLOME DOKTORA VETERINARSKE MEDICINE

Cincović i sar. (13) definišu da je "veterinarska medicina profesija od javnog značaja i strogo regulisana profesija, što znači da se veterinarskom medicinom može baviti samo visokoobrazovani kadar, koji je na univerzitetskom nivou prošao kroz kurikulum veterinarske medicine usklađen prema nacionalnim i EU standardima". To praktično znači da svrha i ciljevi studijskog programa, kao i kompetence studenata predstavljaju jasno regulisane stavke, a njihov sadržaj se koristi iz kurikuluma visokoškolske ustanove i zakonskih propisa, koji regulišu rad veterinara i značaj veterinarske profesije.

Kurikulum mora biti formiran tako da sadrži sve predmete, koje smo nabrojali u predhodnom poglavlju, koji imaju savremen sadržaj i gde za svaki predmet postoje merljivi ciljevi i ishodi učenja. Ishodi učenja predstavljaju kompetencije, koje student stiče nakon što ispuni sve obaveze na studijama. Ishodi učenja se predstavljaju prema Blum-ovoj taksonomiji (Benjamin Bloom, 1913-1999), koji je naš intelektualni rad klasifikovao na šest nivoa: 1) znanje, 2) razumevanje, 3) primena, 4) analiza, 5) sinteza i 6) evaluacija. Za svaki od navedenih nivoa postoji i spisak glagola, koji se mogu koristiti prilikom pisanja ishoda učenja (14). Prilikom pisanja ishoda učenja mora se posebno obratiti pažnja o veštinama prvog dana, koje su date u direktivi 2005/36/EC.

Drugi značajan aspekt u pisanju svrhe, ciljeva i ishoda studija veterinarske medicine je poznavanje propisa, koji regulišu veterinarsku delatnost. U Republici Srbiji postoji Zakon o veterinarstvu, Zakon o dobrobiti životinja, kao i brojni drugi pravilnici i kodeksi, koje donosi Veterinarska komora Srbije i druga stručna tela. Pored navedenog, postoje brojne direktive Evropske Unije (15-20), koje regulišu različite oblasti veterinarske profesije.

Svrha studijskog programa integrisanih akademskih studija veterinarske medicine na Departmanu za veterinarsku medicinu u Novom Sadu je obrazovanje omnikompetentnih doktora veterinarske medicine, koji su deo veterinarske profesije, koja je prepoznatljivo i jasno zanimanje i profesija. Osnovna svrha studijskog programa je školovanje stručnjaka za direktno uključivanje u različite grane i oblike zdravstvene zaštite domaćih i gajenih životinja i kontrole zdravlja i bezbednosti proizvoda, koji su poreklom od životinja. Veterinarsko zanimanje i profesija organizuju se u okviru medicinskog polja Univerziteta i definisani su Zakonom i veterinarstvu i zakonom o regulisanim profesijama. Svrha studijskog programa je da obezbedi društveno koriste competence, koje su definisane Zakonom o veterinarstvu i to: 1) praćenje, zaštitu i unapređenje zdravlja životinja; 2) zaštitu životinja od zaraznih i drugih bolesti; 3) otkrivanje i dijagnostikovanje bolesti i lečenje obolelih životinja; 4) sprovođenje mera zdravstvene zaštite životinja;5) zaštitu ljudi od zoonoza; 6) kontrolu bezbednosti hrane životinjskog porekla i proizvoda životinjskog porekla na mestu uzgoja životinja, proizvodnje i prometa proizvoda životinjskog porekla, hrane životinjskog porekla i hrane za životinje; 7) obeležavanje i registraciju životinja radi kontrole kretanja i obezbeđivanja sledljivosti u proizvodnji i prometu životinja, proizvoda životinjskog porekla i hrane životinjskog porekla; 8) kontrolu vode za napajanje životinja radi obezbeđivanja njene ispravnosti; 9) kontrolu zdravlja priplodnih životinja i njihove reproduktivne sposobnosti, kao i sprovođenje mera za lečenje steriliteta i veštačkog osemenjavanja; 10) zaštitu životne sredine od zagađenja uzročnicima zaraznih bolesti životinja; 11) zaštitu životinja od mučenja i patnje, kao i staranje o dobrobiti životinja; 12) kontrolu u proizvodnji i prometu veterinarskih lekova i medicinskih sredstava za upotrebu u veterinarskoj medicini; 13) poslove dezinfekcije, dezinsekcije, deratizacije, dezodoracije i dekontaminacije i 14) veterinarsku edukaciju i obaveštavanje. Svrha studijskog programa integrisanih akademskih studija Veterinarske medicine je da pruži sva potrebna znanja i veštine, koja su neophodna za očuvanje zdravlja životinja i namirnica animalnog porekla, budući da su studenti odgovarajućim metodama nastave i učenja kvalifikovani za kreativni i inovativni rad, praćenje stručne literature, prikupljanje i obradu podataka; timski rad, kao i uspešno korišćenje znanja i veština u veterinarskoj medicini. Pored navedenog, svrha studijskog programa je da obezbedi pripremanje studenata za aktivno građanstvo i buduću karijeru, podršku njihovom ličnom razvoju, stvaranje široke baze naprednih znanja i podsticanje naučnog rada i inovacija. Stručnjaci ovog profila mogu se zapošljavati u okviru veterinarskih subjekata (veterinarske ambulante, stanice i klinike), veterinarskih laboratorija (mikrobiološke, laboratorije za analizu stične hrane, kliničke laboratorije i drugo), subjekata veterinarskog obrazovanja i istraživanja (srednje škole, fakulteti, inistituti, zavodi) i u okviru veterinarske inspekcije, Uprave za veterinu i drugim regulatornim veterinarskim telima. Pored navedenog, svrha studijskog programa je da obezbedi kompetence da bi se svršeni studenti zaposlili u okviru preduzeća koji se bave: govedarskom, ovčarskom, kozarskom, svinjarskom, živinarskom i konjarskom proizvodnjom, lovnom privredom, proizvodnjom i preradom stočne hrane, u farmaceutskoj indusitriji, u specijalizovanim veletrgovinama veterinarskih lekova, opreme itd. Da bi se upravljalo veterinarskom delatnošću na uspešan način studenti moraju

biti edukovani na odgovarajući način, pa je svrha studijskog programa da obezbedi odgovarajuće kombinacije teorijskog znanja i praktične delatnosti iz svih grana veterinarske medicine.

Cilj integrisanih studija veterinarske medicine je da omogući studentima sticanje najnovijih naučnih i stručnih znanja i veština iz oblasti veterinarske medicine. Drugi značajan cilj je kontinuirani sveobuhvatni razvoj svih aspekata veterinarske struke zasnovan na modernim principima i standardima. Studijski program pruža mogućnosti za sticanje vrlo raznovrsnih praktičnih znanja i veština iz svih grana i oblasti veterinarske medicine, koji su definisali EU direktivama, EAEVE standardima i nacionalnim Zakonom o regulisanim profesijama i podrazumevaju sledeće: 1) primereno poznavanje nauke na kojoj se zasniva delatnost doktora veterinarske medicine i propisa Evropske unije koji se odnose na te delatnosti, 2) primereno poznavanje građe organizma, ponašanja i fizioloških funkcija životinja i kompetencije potrebne za njihov gajenje, hranjenje, dobrobit, reprodukciju i higijenu uopšte, 3) kliničke, epidemiološke i analitičke kompetencije potrebne za prevenciju, dijagnostiku i lečenje bolesti životinja, uključujući anesteziju, aseptične operacije i bezbolnu smrt, bilo pojedinačno ili u grupama, uključujući posebno poznavanje bolesti prenosivih na ljude, 4) primereno poznavanje preventivne medicine, uključujući i poznavanje postupaka koji se odnose na zahteve i sertifikovanje, 5) primereno poznavanje higijene i tehnologije za proizvodnju, izradu i stavljanje u promet hrane za životinje ili hrane životinjskog porekla, namenjene ishrani ljudi, uključujući kompetencije potrebne za razumevanje i objašnjavanje dobre prakse u tom području i 6) primerena znanja i veštine potrebne za odgovornu i razumnu upotrebu veterinarskih lekova radi lečenja životinja i obezbeđivanje sigurnosti prehrambenog lanca i zaštite okoline. Cilj studijskog programa je da stečena znanja i veštine studenti mogu koristiti za svoje dalje stručno usavršavanje, kao i za završavanje viših stepena stručnog i naučnog obrazovanja, kao što su specijalističke i doktorske studije. Cilj studijskog programa je da omogući sticanje kompetenci kroz zakonom definisana naučna u stručna polja, koja se moraju izučavati u okviru integrisanih studija i to su: Fizika, Hemija, Biologija životinja, Biologija biljaka, Biomatematika; Osnovne nauke: Anatomija (uključujući histologiju i embriologiju), Fiziologija, Biohemija, Genetika, Farmakologija, Farmacija, Toksikologija, Mikrobiologija, Imunologija, Epidemiologija i Profesionalna etika. Kliničke nauke: (Porodiljstvo, Patologija, Parazitologija, Klinička medicina, hirurgija, anesteziologija, Klinička predavanja o različitim domaćim životinjama, peradi i drugim životinjskim vrstama, Preventivna medicina, Radiologija, Reprodukcija i poremećaji reprodukcije, Veterinarsko javno zdravstvo, Veterinarsko zakonodavstvo i forenzična medicina, Terapeutika i Propedeutika). Proizvodnja životinja (Proizvodnja životinja, Ishrana životinja, Agronomija, Ruralna ekonomija, Uzgoj životinja, Veterinarska higijena, Etologija i zaštita životinja; Higijena hrane: Inspekcijski nadzor i kontrola hrane za životinje ili hrane životinjskog porekla i Higijena i tehnologija hrane). Praksa: Ciljevi će se ostvarivati uz postepeni prolazak studenta kroz izučavanje svih naučnih i stručnih polja, primenom modernih interaktivnih metoda nastave i učenja, usmeravanjem ka aktivnom i kreativnom učenju, usmeravanjem ka sticanju praktičnog i aplikativnog, umesto čisto teorijskog znanja, što će sve doprineti kontinuiranom poboljšanju efikasnosti studiranja. Usmerenost ka osposobljavanju studenata za samostalni rad u veterinarskoj struci se ogleda prvenstveno preko ponude individualnog izbora predmeta, i ranog izlaganja studenata realnom praktičnom radu kroz rad sa pacijentima i uzorcima pod nadzorom nastavnika. Ciljevi studijskog programa su konkretni, ostvarivi s obzirom na raspoložive resurse, i bliže definišu misiju i ciljeve naše ustanove.

Kompetence studenata na dan diplomiranja precizno su definisane od strane EAEVE/ESEVT i OIE (10, 21, 22) gde je navedeno šta je to što doktor veterinarske medicine po diplomiranju mora da zna i da ume da uradi, odnosno, koja su to znanja i veštine, koje mora da poseduje. Kompetencije studenata na Departmanu za veterinarsku medicinu definisani su u skladu sa navedenim preporukama i definišu da doktor veterinarske medicine treba da: Opiše, obrazloži, utvrdi i kritički oceni strukturu i funkciju zdravih životinja i njihovog odgajanja; etiologiju, patogenezu, kliničke znakove, dijagnozu i tretman uobičajenih bolesti; zakone koji se tiču zdravstva životinja (uključujući transport) i bolesti koje po zakonu moraju da se prijave; Efikasno komunicira sa klijentima, javnošću, kolegama i odgovornim vlsnicima; Priprema jasne izveštaje o pacijentima i održava evidenciju o pacijentima u obliku koji jasno daje informacije veterinarima i koji je jasan javnosti; Radi efikasno kao deo multidisciplinarnog tima; Procenjuje ekonomske i emotivne uslove u kojima veterinar radi, i bira odgovarajući način reakcije na pritiske, koji se javljaju u datim uslovima; Prikuplja, stvara i unapređuje veterinarsko znanje i deluje za dobrobit veterinarske prakse; daje analize i procene o sopstvenim odgovornostima i odgovornostima poslodavca u vezi sa zaposlenjem i zdravljem; Primenjuje pravila bezbednog rada, odnos sa osobljem i odgovornost pred javnošću; Primenjuje osnovne ekonomske principe i obračunava pravilno troškove; Efikasno koristi informacione tehnologije u cilju komunikacije, deljenja, prikupljanja, manipulisanja i analize informacija; uvažava i vrednuje potrebu i profesionalnu obavezu da se posveti trajnoj obuci i edukaciji i profesionalnom razvoju tokom svog profesionalnog života; da primenjuje etičke kodove odgovarajućih regulatornih tela; da bude svestan ličnih granica i da pokaže svest o tome kada, gde i od koga traži profesionalni savet, pomoć i podršku; da koristi istraživačke metode i principe medicine zasnovane na činjenicama i da primenjuje stečena znanja u praksi. Diplomirani doktor veterinarske medicine po završetku studijskog programa poseduje sledeće veštine da: sastavi tačnu i bitnu istoriju pojedinačne životinje ili grupe životinja i njene/njihove okoline; upravlja i obuzdava životinju bezbedno i humano i poučava druge i primenjuje sve tehnike; izvrši kompletan klinički pregled; vodi brigu o svim uobičajenim vrstama domaćih životinja u hitnim slučajevima i da ume da pruži prvu pomoć; tačno proceni nutricioni status životinje i da može da posavetuje klijenta kako da vodi brigu i uzgaja životinju i kako da je hrani; ume da uzme, očuva i transportuje uzorke, izvrši standardne laboratorijske testove i da očita rezultate testova koji su obavljeni u domaćim uslovima, kao i onih koje su obavile druge laboratorije; koristi rendgenski aparat, aparat za ultrazvuk i drugu tehničku opremu, koje može da se koristi kao dijagnostička pomoć, bezbedno i u skladu sa aktuelnim regulativama; poštuje proceduru kod zoonoze i bolesti koje zahtevaju prijavljivanje i izveštaj; zna da obavi sertifikaciju; zna da proceni odgovarajuće izvore podataka o licenciranim lekovima, da prepiše ili da lekove pravilno i odgovorno u skladu sa zakonom i da bude siguran da su lekovi i otpad bezbedno smešteni ili bačeni; predloži i primeni određenu terapiju; Pravilno primeni principe sterilizacije hirurške opreme i primenjuje principe aseptične hirurgije; Bezbedno izvrši sedaciju, totalnu i lokalnu anesteziju i da primeni kontrolu bola; ume da prepozna kada je neophodna eutanazija i da je izvrši humano te da posavetuje o odstranjivanju leša; zna da izvrši osnovni post mortem pregled, zabeleži detalje, uzorkuje tkivo, skladišti ga i transportuje; zna da izvrši ante i post mortem inspekciju životinja za prehranu i tačno identifikuje uslove koji utiču na kvalitet i bezbednost produkta animalnog porekla; zna da oceni i implementira osnovne zdravstvene i socijalne podatke; predloži i formira preventivne i profilaktičke programe prilagođene vrsti životinje; minimalizuje

rizik od kontaminacije širenja infekcije i skupljanja patogena u veterinarskim prostorijama i polju.

NASTAVNI KAPACITETI U REALIZACIJI STUDIJSKIH PROGRAMA VETERINARSKE MEDICINE

Organizacione jedinice Departmana u okviru koji se pružaju veterinarske usluge praksi, realizuje se nastava i vrše se istraživanja su (23): Veterinarska klinika (klinika za hirurgiju; klinika za unutrašnje bolesti; klinika za porodiljstvo; ambulantna mobilna klinika), Laboratorija za patološku fiziologiju, Laboratorija za patologiju, Laboratorija za reprodukciju životinja, Laboratorija za farmakologiju i toksikologiju sa veterinarskom apotekom, Laboratorija za higijenu namirnica animalnog porekla, Laboratorija za mikrobiologiju, imunologiju, virusologiju i parazitologiju, Laboratorija za dijagnostiku infektivnih bolesti i zoonoza, Laboratorija za molekularna istraživanja, Laboratorija za dijagnostiku mastitisa, Laboratorija za bolesti pčela i riba. Pored ovih kapaciteta na Poljoprivrenom fakultetu u okviru Departmana za stočarstvo, sa kojim postoji tesna saradnja, nalazi se glavna odgajivačka organizacija za različite farmske vrste, gde se vodi matična evidencija, izdaju pedigrei, ocenjuje i rangira kvalitet priplodnih grla i dr. Tu je i laboratorija za genetiku, Laboratorija za mleko, Laboratorija za kvalitet hrane za životinje, gde se ispituju parametri kvaliteta hrane za životinje i hrane animalnog porekla. Pored izrade laboratorijskih analiza, prednost slanja uzoraka u istraživačke laboratorije našeg Fakulteta je što se pored izdavanja rezultata očekuje se i adekvatno tumačenje nalaza, a može se dogovoriti i dodatna poseta stručnog osoblja ili poseta samim laboratorijama i profesorima da bi se što lakše rešio određeni konkretan problem u struci. Prednost studiranja veterinarske medicine na našem studijskom program u Novom Sadu je postojanje multidisciplinarnosti u realizaciji kurikuluma. Agrocampus – odnosno Nacionalni istraživačko obrazovni centar u poljoprivredi razvija se kao jedinstveni koncept koji sublimira naučno-istraživački rad, nastavni rad i servis praksi. Ovaj centar je počeo sa radom na mestu nekadašnjeg centra za VO u Temerinu, čija su vlasnička prava pripala Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu. U okviru Agrocampusa planiraju se sledeći kapaciteti: distributivni i prodajni centar za seme, farmski menadžment i mobilna veterinarska služba, veterinarska klinika i stacionar za farmske životinje, farma živine, farma goveda, uzgoj goveda po sistemu krava-tele, bioenergana, proizvodnja sira i meda, hotel za studente, najsavremenija laboratorija za reprodukciju, sajamski centar, interaktivne učionice i drugo. Koncept se intenzivno razvija u svakom segmenatu, a predviđeno je da bude podržan velikim stepenom automatizacije, digitalizacije i robotizacije, jer će se u svim oblastima primenjivati najsavremenije informacione tehnologije. Za sada stručnjaci Agrocampus-a pružaju kompletne farmske usluge pre svega u oblasti mlečnog govedarstva koji podrazumevaju: a) Plan parenja za farmu, b) Distribucija semena; c) Korekcije ishrane (Analiza kabastog i koncentrovanog dela obroka, Sugestije u pripremi kabaste hrane na osnovu analiza, Predlog obroka po proizvodnim grupama, Sugestije u oblasti podele hrane, struktura obroka, kvaliteta varenja i preživanja),d) Metabolički status krava (Ocena telesne kondicije, Procena metaboličkog statusa krav, Izrada metaboličkog profila, Procena subkliničkih i kliničkim metaboličkih bolesti na farmi i rizika za njihov razvoj), e) Upravljanje reprodukcijom (Pregled reproduktivnog trakta od telenja do prvog osemenjavanja, Utvrđivanje distribucije osemenjavanja po danima laktacije, Utvrđivanje procenta steonosti po broju osemenjavanja, Definisanje korektivnih mera u cilju povećanja reproduktivne efikasnosti, Obrt stada, definisanje procenta izlučenja),f) Analiza mleka (Predlog mera u cilju korekcije procenta masti i proteina u mleku, Predlog mera u cilju smanjenja broja somatskih ćelija u mleku, Predlog mera u

cilju smanjenja broja bakterija u mleku) (24). U budućnosti ovo će biti regionalni centar za edukaciju veterinara u oblasti bolesti farmskih životinja i centar kontinuiranih edukacija iz različitih oblasti, a pre svega reprodukcije, bolesti metabolizma, bolesti papaka, bolesti vimena i drugih poremećaja zdravlja i produktivnosti pre svega, goveda.

Sa razvojem kurikuluma i kapaciteta za realizaciju nastave menjaju se i nastavne metode i način izvođenja nastave, pa je jedan od osnovnih pristupa na Departmanu za veterinarsku medicinu u Novom Sadu da studenti budu što ranije izloženi praksi i da se praktični rad sve više odvija u realnim uslovima, sa mnogo manje demonstracionih vežbi. Mnogi predmeti se upravljaju prema ishodima – veštinama i znanjima, koje studenti treba da postignu nakon diplomiranja, pa je tako predmet Patološka fiziologija transformisan od bazičnog ka klinički orijentisanom predmetu, a izvedeni su i brojni drugi predmeti, koji omogućuju sticanje laboratorijskih kompetenci, kao što su Laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji, Klinička patološka fiziologija, Klinička hematologija i biohemija životinja (25,26). Ove reforme su bolje za studente i nastavnike, ali istovremeno i teške, jer zahtevaju više samostalnog rada i pripeme studenata i veći stepen interakcije i zajedničkog praktičnog rada sa nastavnicima i saradnicim, tokom realizacije kurikuluma.

Na univerzitetima 21.veka nastavlja se sa Humboltovim konceptom, koji podrazumeva da se na univerzitetima vrši integrisanje nastave i naučnog istraživanja, te da nastavnici predaju ono što istražuju i ono u čemu se stručno usavršavaju. Ta integracija znači da će kvalitetnije istraživanje u dobrim i kvalitetnim laboratorijama dati i bolje nastavne ishode. Kvalitetnije istraživanje znači objavljivanje objavljivanje većeg broja naučnih radova, čime raste i baza znanja, koja je dostupna studentima. Da su novi kapaciteti dobro postavljeni u oblasti istraživanja pokazuju rezultati da se Univerzitet u Novom Sadu nalazi među 300 najboljih na Šangajskoj listi u oblasti veterinarske medicine za 2018. i 2019. godinu.Integracija nastavnog i naučno-istraživačkog rada i značaj međunarodnog rangiranja univerziteta predstavljeni su u našim prethodnim radovima (27).

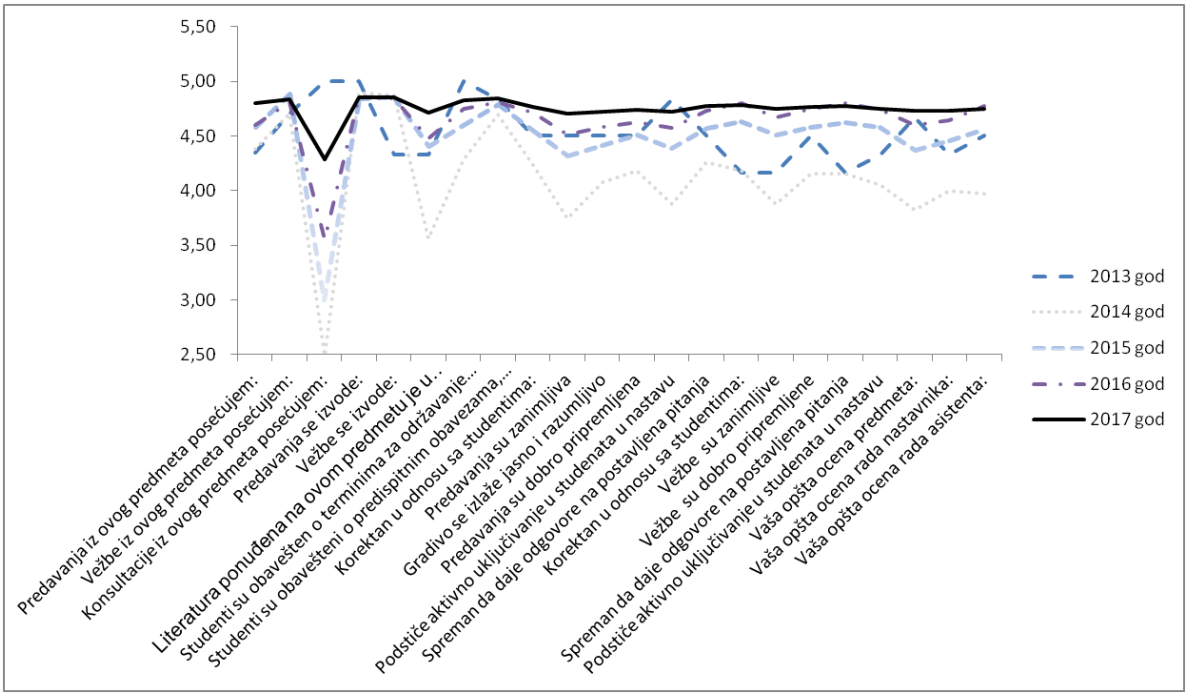
SAMOVREDNOVANJE NASTAVNOG PROCESA OD STRANE STUDENATA

Visokoškolske ustanove moraju da sprovode postupak vrednovanja sopstvenih rezultata i dostignuća, kao preduslov i pripremu za vrednovanje od strane nezavisnih komisija, a taj postupak se naziva samovrednovanje ustanove. Samovrednovanje je definisano posebnim pravilnikom (28). Osnovni cilj samovrednovanja je poboljšanje kvaliteta nastavnog procesa, studijskih programa i uslova rada. Cilj vrednovanja od strane studenata je utvrđivanje mišljenja studenata o: Pedagoškom radu nastavnika i saradnika, koje se uzima u obzir prilikom izbora u zvanje nastavnika i saradnika Univerziteta; Kvalitetu studijskog programa, koji se uzima u obzir u postupku akreditacije studijskog programa i Oceni kvaliteta studijskih programa, nastave i uslova rada u postupku samovrednovanja i akreditacije Fakulteta. Cilj samovrednovanja od strane zaposlenih Fakulteta je utvrđivanje mišljenja o oceni kvaliteta studijskih programa, nastave i uslova rada u postupku akreditacije studijskih programa i Fakulteta. Cilj vrednovanja od strane poslodavaca svršenih studenata fakulteta je da se poboljša kvalitet studijskih programa i kompetencija svršenih studenata. Anketiranje studenata se sprovodi pri kraju svakog semestra, nakon diplomiranja, kao i nakon zaposlenja. Sve ankete, koje imaju za cilj vrednovanje od strane studenata su anonimne. Nakon anketiranja studenata, podaci se automatski obrađaju unutar informacionog sistema Fakulteta. Dobijene rezultate Studentska služba dostavlja šefovima katedri, a oni nastavnicima za svaki nastavni predmet na kome su angažovani. Na osnovu tih rezultata svaki nastavnik pravi izveštaj, koji dostavlja rukovodiocu studijskog programa, a on formira izveštaj, koji dostavlja katedri zaduženoj za realizaciju tog studijskog

programa. Na katedri se analiziraju rezultati anketa i pravi Izveštaj, koji se dostavlja prodekanu za nastavu.
Odgovori na 22 pitanja u skladu sa pravilnikom i dobijene prosečne ocene prikazane su na Grafikonu 1. Rezultati samovrednovanja sprovedeni u periodu od 2013. do 2017. godine pokazuju trend povećanja prosečnih ocena, kojima su studenti ocenili, po svim pitanjima. Najveći napredak je vezan za konsultacije sa nastavnicima, gde se sa dužim vremenskim periodom ispitivanja konstatuje mnogo bolje vrednovanje, a prema našim saznanjima studenti sve češće pohađaju konsultacije naročito u onim radnim jedinicama i na onim predmetima, gde imaju mogućnosti za dodatni praktični rad i rešavanje praktičnih praktičnih problema i nejasnoća, koje poseduju. Navedeni ispitivani period je posebno značajan, jer smo tada krenuli sa reformom nastavnog procesa i kurikuluma. Sledeći zanimljiv period je 2018-2022, kada će biti anketirani studenti, koji su realizovali program u okviru novih kapaciteta kao što su klinike, laboratorije, sala za anatomiju i drugo a koji su u poslednjem semestru imali studentsku intramuralnu i ekstramuralnu praksu, a dat je akcenat na veštinama prvog dana i što boljem praktičnom osposobljavanju.

ZAKLJUČAK

Na osnovu svega navedenog zaključujemo da su kurikulum i nastavne metode tokom dve decenije postojanja Departmana za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu prošli razvojni put, koji je imao za cilj da se student stavi u centar nastavnog rada, a kompetence u centar kurikuluma veterinarske medicine. Ovakve promene nastale su kao posledica prilagođavanja nacionalnim i međunarodnim standardima kvaliteta u veterinarskom visokom obrazovanju uz poštovanje regulative da je veterinarska medicina regulisana profesija i unapređenjem nastave, koja je postignuta primenom savremenih tehnika i nabavkom savremene opreme za izvođenje praktične nastave.



Grafikon 1: Studentske ocene dobijene tokom procesa samovrednovanja nastavnog procesa na integrisanim studijama veterinarske medicine u Novom Sadu za period 2013-2017.

LITERATURA

1. *Elaborat o opravdanosti osnivanja studijskog programa veterinarske medicine, Novi Sad, 1999.*
2. *Departman za veterinarsku medicinu – 18 godina u nastavni, nauci i privredi. Monografija i bibliografija. Novi Sad. Cincović M.R. i Belić B. (ur.), 2018, str.1-50.*
3. *Statut Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, aktuelna verzija mart 2020.*
4. *Pravilnik o radu laboratorije za patološku fiziologiju departmana za veterinarsku medicinu , aktuelna verzija mart 2020.*
5. *Pravilnik o radu veterinarske klinike, aktuelna verzija mart 2020.*
6. *Despotović M. Razvoj kurikuluma u stručnom obrazovanju. Filozofski fakultet, Univerzitet u Beogradu. 2010.*
7. *Burke J.W. Competency based education and training. The Falmer press, London-New York. 1989.*
8. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa integrisanih studija veterinarske medicine, 2019*
9. *DIRECTIVE 2005/36/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL Official Journal of the European Union of 7 September 2005 on the recognition of professional qualifications.*
10. *ESEVT SOP, Zagreb; Annex 2. List of subjects and Day One Competences. 2019.*
11. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa specijalističkih studija veterinarske medicine, 2019.*
12. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa doktorskih studija veterinarske medicine, 2019.*
13. *Cincović MR, Belić B, Stevančević M, Toholj B, Starič J, Smolec O, Ćutuk R, Potkonjak A, Stojanac N, Stevančević O. Sistem kvaliteta u veterinarskom obrazovanju u Srbiji i EU – konstruktivno usaglašavanje kurikuluma. Letopis naučnih radova Poljoprivrednog fakulteta, 2015; 39(1) 108-120.*
14. *Kennedy D. Pisanje i upotreba ishoda učenja-praktični vodič. Savet Evrope, kancelaija u Beogradu, Srbija. 2007.*
15. *Regulation 852/2004/EC (on the hygiene of foodstuffs) ;*
16. *Regulation 853/2004/EC (on specific hygiene rules for food of animal origin);*
17. *Regulation 854/2004/EC (on specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption)*
18. *Regulation (EU) 2017/625 (on official controls)*
19. *Regulation 1099/2009/EU (on the protection of animals at the time of killing) as amended by Regulation (EU) 2017/625;*
20. *Regulation (EU) 2016/429 (on transmissible animal diseases and amending and repealing certain acts in the area of animal health);*
21. *OIE recommendations on the Competencies of graduating veterinarians ('Day 1 graduates') to assure National Veterinary Services of quality*
22. *Final Recommendations of the 4th OIE Global Conference on Veterinary Education*
23. *Departman za veterinarsku medicinu sajt: http://www.nsveterina.edu.rs/,pristup 05.03.2020.*
24. *Agrocampus sajt: https://agrocampus.rs/, pristup 05.03.2020.*
25. *Belić B, Cincović M, Lakić I. Unapređenje nastavnih metoda na predmetima iz oblasti patološke fiziologije na Departmanu za veterinarsku medicinu u Novom Sadu- predstavljanje projekta ,,PAFILAB". Zbornik radova i kratkih sadržaja 30. savetovanja veterinara Srbije. Zlatibor, 2019,12-15.*
26. *Cincović MR, Starič J, Belić B, Ježek J. Klinička laboratorijska nastava u visokoškolskim veterinarskim ustanovama. Zbornik radova 28. Savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor 7-10. septembar, 2017,170-75.*
27. *Cincović M.R., Belić B. 2018. Rangiranje univerziteta, naučno-istraživački i nastavni rad u polju Veterinarske medicine. Letopis naučnih radova 2018, 42: 58-69.*
28. *Pravilnik o samovrednovanju studija, pedagoškog rada nastavnika i uslova rada, aktuelna verzija u martu 2020.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 378.147
Cincović et al., pp 25-42

RAZVOJ SILABUSA I NASTAVNIH METODA IZ PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU POLJOPRIVREDNOG FAKULTETA UNIVERZITETA U NOVOM SADU 2000-2020

DEVELOPMENT OF SYLLABUS AND TEACHING METHODS OF PATHOPHYSIOLOGY AT THE DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE - FACULTY OF AGRICULTURE- UNIVERSITY OF NOVI SAD 2000-2020

Marko R. Cincović[a]*, Branislava Belić[a]

[a]Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Laboratorija za patološku fiziologiju, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija
[a]University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine, Laboratory of pathophysiology, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia
**Autor za kontakt: Prof.dr Marko Cincović, mcincovic@gmail.com*

SAŽETAK

Patofiziologija se prvi put spominje u francuskoj medicinskoj literaturi sredinom XVI veka. Patološka fiziologija proučava bolesne procese, uzroke bolesti, mehanizme njihovog nastanka i razvoja, kompenzatorne procese u organizmu tokom razvoja bolesti, laboratorijske pokazatelje i parametre koji ukazuju na postojanje bolesti, laboratorijske metode, interpretaciju kliničke slike i laboratorijskih nalaza kod pacijenata. Zbog svega navedenog patofiziologija je u isto vreme bazična biomedicinska nauka, ali i primenjena klinička nauka. U "veštinama prvog dana" koje propisuje EAEVE definisano je da studenti po diplomiraju moraju poznavati etiologiju i patogenezu različitih bolesti, da umeju da urade i interpetiraju laboratorijske testova i da poznaju osnove laboratorijskog rada. Zbog velikog značaja patološke fiziologije Međunarodno društvo za patofiziologiju (ISP) je donelo dve deklaracije u Pekingu (2006 godine) i Šangaju (2009 godine) koje precizno opisuju mesto i značaj patološke fiziologije i način realizovanja nastavnog procesa u ovoj oblasti. Zbog svih ovih činjenica oblast patološke fiziologije u okviru dodiplomskih studija veterinarske medicine na Departmana za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu je doživela značajne reforme: povećan je fond časova iz patološke fiziologije a nastava je raspoređena na dva semestra, napravljen je novi nastavni materijal i objavljene su knjige koje omogućuju kontinuirani rad studenata i formativnu procenu znanja, razvijena je laboratorija u kojoj studenti aktivno rade, uvedeni su predmeti vezani za laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji i kliničku patologiju, insistira se na primeni principa medicine zasnovane na činjenicama tokom nastavnog procesa, nastavnici konstantno rade u praksi i u istraživanju, realizuju se projekti iz patološke fiziologije ali i projekti iz oblasti unapređivanja nastave, insistira se na što boljoj naučnoj produkciji i intenzivnom radu sa postdiplomcima, u sve aktivnosti su uključeni studenti. Potrebno je i dalje raditi na usavršavanju silabusa i nastavnih metoda, uz što preciznije definisanje aktivnosti i uloge studenata u nastavnom procesu.

Ključne reči: patofiziologija, veterinarska medicina, nastavne metode, didaktika, silabus.

ABSTRACT

Pathophysiology was first mentioned in French medical literature in the mid-sixteenth century. Pathological physiology studies disease processes, causes of diseases, mechanisms of their emergence and development, compensatory processes in the body during the development of disease, laboratory indicators and parameters indicating the existence of the disease, laboratory methods, interpretation of the clinical picture and laboratory findings in patients. Because of all of the above, pathophysiology is at the same time basic biomedical science as well as applied clinical science. EAEVE's "first-day competence" defines that, upon graduation, students must have knowledge of the etiology and pathogenesis of various diseases, be able to perform and interpret laboratory tests and know the basics of laboratory work. Due to the great importance of pathological physiology, the International Society of Pathophysiology (ISP) has issued two declarations in Beijing (2006) and Shanghai (2009) that accurately describe the place and importance of pathological physiology and the way in which the teaching process is implemented in this field. Due to all these facts, the field of pathological physiology within the undergraduate studies of veterinary medicine at the Department of Veterinary Medicine of the Faculty of Agriculture of the University of Novi Sad has undergone significant reforms: the fund of classes in pathological physiology has been increased and teaching has been spread over two semesters, new teaching material has been created and books have been published that enable continuous work of students and formative assessment of knowledge, a laboratory has been developed in which students work actively, subjects related to laboratory techniques in pathological physiology and clinical pathology have been introduced, insists on the application of fact-based medicine principles during the teaching process, teachers they are constantly working in practice and in research, projects in pathological physiology are realized, as well as projects in the field of teaching improvement, insist on the best possible scientific production and intensive work with postgraduates, students are involved in all activities. Work on improving syllabus and teaching methods should be continued, with the most precise definition of students' activities and roles in the teaching process.

Key words: pathophysiology, veterinary medicine, teaching methods, didactics, syllabus.

DEFINICIJA, MESTO I ZNAČAJ PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE U KURIKULUMU VETERINARSKE MEDICINE

Ideja o razvoju patofiziologije kao discipline pominje se još 1542.godine u delu poznatog francuskog filozofa i lekara Žana Fernela (Jean-François Fernel, Fernelius, 1497–1558) koji je u svom delu "De naturali parte medicinae" opisao da bi bilo potrebno da se razvije posebna vrsta fiziologije, koja izučava bolesne osobe. Termin patološka fiziologija pominje se 1617.godine u knjizi Žan de Varanda pod naslovom "Tractatus de affectibus renum et vesicae". Prva knjiga iz patološke fiziologije objavljena je u nemačkoj tokom 1790-ih godina od autora Avgusta Hekera (August Friedrich Hecker, 1763–1811). Isti autor je 1796.godine pokrenuo je prvi naučni časopis u ovoj oblasti pod naslovom "Magazin für die pathologische Anatomie und Physiologie". Godine 1819. Autor Louis Cailliot je objavio dvotomno izdanje knjige pod naslovom "Eléments de Pathologie generale et physiologie pathologique". Detalji o istorijskom razvoju patološke fiziologije i njenim savremenim trendovima mogu se pročitati u interensatnom delu ruskog patofiziologa Leonida Čurilova (1)

U udžbeniku “Patološka fiziologija” (2) definisana je i određena patološka fiziologija kao naučna disciplina i njen značaj u veterinarskoj medicini: “Predmet proučavanja patološke fiziologije su opšti zakoni nastanka promenjenih fizioloških procesa u organizmu, uzroci njihovog nastajanja, mehanizmi kojim se ti procesi razvijaju i tok i ishod tih poremećaja. Takođe patološka fiziologija izučava sve adaptacione i kompenzatorne mehanizme koji se aktiviraju prilikom promene fizioloških procesa, a u ciju održavanja homeostaze organizma.

Patološka fiziologija je deo medicine, naučna disciplina u čijoj metodologiji dominiraju postupci za prepoznavanje uzroka i mehanizama razvoja poremećaja funkcije i strukture organa.Ona ima zadatak da objasni uzroke i nastanak bolesti, promene organizma u fiziološkom i biohemijskom smislu, kada organizam prelazi iz stanja zdravlja u stanje bolesti. Pripada laboratorijskoj medicinskoj struci i daje neophodne i značajne podatke u dijagnostičkim postupcima. Pored navedenog, daje objašnjenja o dejstvu etioloških činilaca na životinjski organizam, te proučava poremećaje, koji su zajednički za mnoge bolesti a ne samo za jednu bolest.

Patološka fiziologija je povezana sa klinikom ili kliničkim predmetima, odnosno predstavlja vezu između kliničkih i predkliničkih disciplina.Razlikuje se od kliničkih disciplina, jer se bavi promenljivim biološkim procesima , koji su zajednički za mnoge bolesti, a kliničke discipline pručavaju svaku bolest pojedinačno. Ponekad je u patofiziologiji potrebno radi shvatanja kompleksnosti patofizioloških procesa, u životinjskom svetu opisati bolesti i pojedinačno.

Zbog navedenog, patološka fiziologija se može posmatrati kao: Teorijska-bazična nauka – koja ima za cilj da opiše mehanizme nastanka i razvoja bolesti od nivoa organizma do subcelularnog nivoa; Predklinička nauka – koja se bavi funkcionalnom procenom unutrašnjih organa na osnovu bohemijskih, hematoloških i drugih parametara zahvaljujući prednostima medicine, dijagnostike i tehnologije; Klinička nauka – čiji je cilj primena dodatnih analiza, tumačenje njihovih rezultata uz datu anamnezu, kliničku sliku i primenu terapijskog postupka. Klinički pristup se još naziva i klinička patologija, a zbog predmeta izučavanja često se na nazive bazičnih disciplina dodaje naziv klinička (klinička hemija, biohemija, hematologija). Takođe postoji i naziv laboratorijska medicina.

U veterinarskoj medicini, patološka fiziologija podiže značaj životinja od nivoa proizvodne kategorije, ka kategoriji pacijenta, koji obzirom na individualne razlike zahtevaju i posebnu dijagnostiku i tretman. Ona omogućava da se istovremeno posmatra zdravstveno stanje i korist proizvodnih kategorija životinja pomoću ”dijagnostike u masi”, pri čemu se određuju i međusobno porede parametri zdravstvenog stanja stada/jata i predlažu konkretne korektivne mere na tehnološkom nivou ili nivou zdravstvenog menadžmenta.

Patološka fiziologija se nalazi u osnovi moderne veterinarske medicine. Naime, prva visoka veterinarska škola osnovana je 1761. godine u Lionu-Francuska. Školu je osnovao Klod Buržela, koji je prvi uveo koncept patobiologije i poredio humanu i animalnu „mašinu“ kao sličnu, pa je predložio da se formira zanimanje „doktor za životinje“, gde će se empirijska saznanja zameniti naučnim utemeljenjima zasnovanim na patobiologiji.

Iz navedenog se nameće zaključak da patološka fiziologija predstavlja ključnu kariku u donošenju konačne dijagnoze u proceni funkcionalnog statusa organa i organizma. Zbog logičnosti i preciznosti, koju ona sadrži kažemo da je patološka fiziologija matematika medicine. Po definiciji patološka fiziologija ili patofiziologija je patobiološka nauka, koja se bavi proučavanjem bioloških procesa u organizmu, koji dovode do promena funkcija organa i sistema organa.“

Patološka fiziologija je prvi predmet u okviru kurikuluma dodiplomskih studija veterinarske medicine u kom studenti

detaljno izučavaju definiciju bolesti, etiologiju i patogenezu bolesti, odnosno zakone nastanka bolesnih stanja i razvoja bolesnih procesa. Značaj ovog predmeta predstavlja njegovo mesto u koru kurikuluma veterinarske medicine i svih ostalih biomedicinskih kurikuluma (medicina, stomatologija, farmacija). Veterinarska medicina je regulisana profesija (3-5). Regulisanost veterinarske medicine ogleda se u regulaciji veterinarske delatnosti (Zakon o veterinarstvu, Zakon o dobrobiti životinja), međunarodnom prepoznavanju veterinarske profesije (Zakon o regulisanim profesijama) i nacionalnoj i međunarodnoj regulaciji veterinarskog kurikuluma (dokumenta koja donose EAEVE, OIE, FVE, ENQA i NAT/KAPK). Kurikulum veterinarske medicine je precizno definisan sa aspekta predmeta i sa aspekta veština, koje studenti moraju imati po diplomiranju, a osnovna direktiva koja to reguliše je evropska direktiva 2005/36/EC i spisak veština propisan od strane EAEVE. Prema nacionalnim standardima kvaliteta, potrebno je za svaki studijski program precizno definisati ciljeve i ishode učenja i praktične veštine studenata, a te veštine moraju biti usvajane kroz različite predmete kurikuluma. U veštinama prvog dana definisano je da doktori veterinarske medicine na dan diplomiranja znaju da jasno i precizno napišu izveštaj o kliničkom slučaju, da prikupe, upakuju i pošalju uzorke za laboratorijsku analizu i da tumače rezultate, koriste licenciranu literaturu, upravljaju medicinskim otpadom i kreiraju preventivne i profilaktičke programe. Znanje koje doprinosi i potpomaže veštine, je propisano tako što veterinari na dan diplomiranja mora da znaju etiologiju, patogenezu, kliničke znake, dijagnozu i tretman uobičajenih bolesti i poremećaja, koji se pojavljuju kod domaćih vrsta životinja. Zbog svega navedenog, potrebno je na pravi način pozicionirati i organizovati predmet ili grupe predmeta iz oblasti patološke fiziologije.

Međunarodno društvo za patofiziologiju (eng., *International Society for Pathophysiology, ISP*) je 2002.godine definisalo patološku fiziologiju kao "*savremenu, integrativnu, biomedicinsku nauku zasnovanu na osnovnim i kliničkim istraživanjima, koja se bavi mehanizmima, koji su odgovorni za pokretanje, razvoj i lečenje patoloških procesa kod ljudi i životinja*" (6).

ISP je na svom sastanku u Pekingu 2006. godine usvojilo deklaraciju o patofiziološkoj nastavi i učenju u biomedicinskom kurikulumu. U daljem tekstu prenosimo dokument u celosti, koji predstavlja prevod izvornog teksta, koji je dao Kovač (2007) i koji se nalazi na sajtu ISP (7,8):

"Patofiziološka analiza, integracija regulatorne homeostaze i homeodinamike telesnih procesa i njihova međusobna povezanost postavlja jasan pristup sveobuhvatnoj viziji i potpunijem razumevanju etiologije i patogeneze bolesti. Nastali važni biomedicinski principi okupljaju i klinička i pretklinička znanja i direktno vode studente na putu medicine zasnovane na dokazima.

Brzo širenje naučnih saznanja povezanih sa višestrukim aspektima složenog patobiološkog fenomena sve više omogućava kvantitativnu procenu relevantnih procesa u okviru celovitog telesnog sistema. Prepoznavanje primarnih, sekundarnih i manje neposrednih patogenih mehanizama vodi ka interno konzistentnom opisu prirodnog toka bolesti.

Integrativno patofiziološko podučavanje/učenje povećava nagon učenika da stekne i zadrži teorijska, praktična i upotrebljiva znanja/kompetencije. Integracija dovodi do boljeg razumevanja, zadržavanja znanja, kao i uvažavanja hijerarhije mehanizama bolesti (molekularnih, biofizičkih, subćelijskih, ćelijskih, organskih, sistemskih, epidemioloških) i sintetičkog prikaza morfološkog, biohemijskog, genetskog i kliničkog znanja.

Održive reforme biomedicinskih kurikuluma treba da poštuju i sprovode odgovarajuće patofiziološke strategije podučavanja/učenja. ISP preporučuje da se

8% ili više od ukupnog broja sati predavanja/učenja posveti patofiziološkom razmatranju bolesti i stanja kao i stanja pre bolesti. Optimalno je da se polovina ovih sati sastoji od opšte patofiziologije, koja se bavi zajedničkim pojmovima, principima i obrascima etiologije i patogeneze.

Razumevanje složenih pojava uključuje sintezu informacija dobijenih iz mnogih izvora (maksimalni uvid). Dalje razumevanje postiže se vršenjem, pojačavanjem, ponavljanjem i stalnim upućivanjem na različite izvore, što dovodi do sve većeg rafiniranja i dubine percepcije (sporazumna validacija). U patofiziologiji ovo preciziranje uvida uključuje prepoznavanje i povratnih čvorova/petlji u procesima etiopatogeneze.

Metode, koje se koriste u učenju patofiziologije ne bi trebalo zanemariti paralelne i kontekstualne mehanizme i potencijalne etiopatogenetske tačke razgranavanja uz razmatranje osnovnog/dominantnog patogenetskog mehanizma. Sprovođenje takvih etiopatogenetskih rezonovanja je suštinski i pouzdan temelj dijagnostičkih i terapijskih intervencija kao i prevencije.

Usvajanje integrativnog pristupa razmišljanju i sticanju znanja omogućava sintezu koherentnih struktura iz heterogenih podataka. Ovaj pristup je podjednako relevantan za proučavanje opšte i specijalizovane patofiziologije (nozologije), i treba ga primeniti u okviru različitih oblika nastave / učenja, kao što su klasični seminari, moduli za učenje zasnovani na problemima, praktične vežbe, klinička kruženja itd."

Međunarodni simpozijum za nastavu patofiziologije (ISPT-2009) održan u Šangaju (u novembru 2009.) usvojio je sledeće rezolucije koje prevodimo u potpunosti na srpski jezik (9):

"1. Studijska misija – Od kliničkih i osnovnih izvora informacija stvoreno je odgovarajuće znanje o prirodnim patobiološkim procesima ljudskih bolesti. Cilj i opseg patofiziološkog pristupa je integrisanje relevantnih pretkliničkih i kliničkih podataka, koji mogu doprineti dubljem razumevanju stanja pacijenta. Razumevanje etiopatogenetskih puteva u telu pouzdan je temelj za procenu dijagnostičkih podataka kao i za selektivnu i ciljanu terapijsku intervenciju.

2. Akademski oblici – Opšta patofiziologija treba da se usredsredi na zajedničke puteve etioloških faktora i patogenetskih procesa, koji pokrivaju sve glavne vrste telesnih reakcija (kao što su hipoksija, stres, šok, inflamacija, kancerogeneza, poremećaji fluida i elektrolita itd.), bez obzira na organski sistem koji je uključen. I nastavni planovi i metodologija poučavanja trebaju biti fokusirani na etiopatogenetske klastere, grananje, paralelne puteve i samoregulatornu prirodu nelinearnih složenih sistema. Opšti kurs patofiziologije trebao bi omogućiti integrativno i sveobuhvatno bavljenje postgenomskim molekularnim količinama podataka i njihovu integraciju u klasične poglede etiologije i patogeneze. Nozologija ili posebna patofiziologija pojedinih entiteta bolesti / poremećaja i patofiziologija organa i sistema treba da budu zajednički obezbeđeni od strane stručnjaka sa odeljenja za patofiziologiju i pojedinih grana medicine. Budući da je misija kliničke medicine direktna primena znanja za „vraćanje zdravlja i obezbeđivanje boljeg kvaliteta života hronično bolesnih i hendikepiranih osoba", osnovna etiologija i patogeneza su ključne za optimalno lečenje i ishode. U isto vreme, sama nozologija je jedinstven izvor o kliničkoj prirodi mehanizama čovekove bolesti koji doprinose opštim konceptima i razumevanju ljudskih telesnih procesa. I nozologija i opšta patofiziologija treba da posvete odgovarajući vremenski udeo predavanja/učenja eksperimentalnim aspektima problema, koji pružaju različiti modeli, zajedno sa kliničkim prirodnim tokom istog problema. Naučne, dijagnostičke i računske metodologije nameću inherentna ograničenja u rezultatima i podacima. Stoga bi sveobuhvatna studija patofiziologije trebalo da uzme u obzir dostupne podatke,

njihov intrinzični kvalitet i kontekstualnu ulogu u bolestima. Preddiplomsko, postdiplomsko i kontonuirano obrazovanje (i drugi) trebalo bi da se pridržavaju istih etiopatogenetskih principa, i u sadržaju studija i u odgovarajućim nastavnim oblicima.

3. Profil nastavnog osoblja – Optimalan profesionalni razvoj akademskog osoblja u patofiziologiji treba da uključuje kombinaciju doktora medicine, doktoranta, postdoktorske obuke i kliničke rezidencije. Aktivno naučno istraživanje i aktivna klinička praksa su preduslov i pokretačka snaga savremenog učenja/patofiziologije. Takav profil nastavnika može pobuditi učenikov entuzijazam u potrazi za dubljom i potpunijom razradom kliničkih problema.

4. Podešavanje odeljenja – Optimalno odeljenje patofiziologije u medicinskoj školi trebalo bi da bude deo univerzitetske bolnice, ili treba da bude u bliskoj funkcionalnoj vezi sa njim. Sastoji se od nastavnog i laboratorijskog istraživanja i kliničke ustanove. Trebalo bi da bude opremljeno odgovarajućom informacionom tehnologijom i da sprovodi istraživačke aktivnosti. Klinički rad i eksperimentalna istraživanja, obavljena jedno pored drugog, okupljaju dva glavna izvora datog patobiološkog problema. Takva institucionalna šema promoviše sintetički pogled i interpretaciju osnovne etiopatogeneze.

5. Kurikularni položaj – Upravljanje univerzitetom, donosioci akademske politike i akteri u obrazovanju treba da budu svesni ovih prednosti i da primenjuju vidljivost nastavnog plana i programa, predstave sadržaj predmeta, odgovarajuće pozicioniranje i raspoređivanje vremena za patofiziologiju. Nastava opšte i specijalne patofiziologije može pomoći u prevazilaženju trajnog problema tendencije razdvajanja medicinske prakse, koji se odvija paralelno sa eksponencijalnim rastom naučnih podataka, koji imaju potencijalnu važnost u kliničkoj medicini. Patofiziologija je prirodni most koji smanjuje rastuću dihotomiju.

6. Multidisciplinarna integracija – Patofiziološka vertikalna (hijerarhijski nivo organizovanosti organizma), horizontalna (od različitih organskih sistema) i longitudinalna (upućivanje na vreme u prirodnoj istoriji) integracija heterogenih podataka i relevantni odnosi stvaraju pouzdan referentni okvir za procenu bolesti. Široka integracija poboljšava kvalitet kliničke interpretacije. Omogućuje prožimanje medicine zasnovane na dokazima u svakodnevni klinički život. Doprinosi razumevanju etiopatogenetskih osnova farmakoloških, hirurških i/ili tehnoloških intervencija."

RAZVOJ SILABUSA PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE NA DEPATMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU U NOVOM SADU

Razvoj patološke fiziologije može se podeliti prema ciklusima akreditacije visokoškolskih ustanova i studijskih programa u R.Srbiji. Od osnivanja studijskog programa veterinarske medicine u koru kurikuluma dodiplomskih studija postojao je predmet Patološka fiziologija (10). Organizovan je kao jednosemestralni predmet sa fondom časova 3+3. U periodu **od 2000-2007.**godine, fakulteti su imali detaljno razrađene planove i programe gde je akcenat stavljen na sadržaj predmeta. Planovi i programi su pisani detaljno do nivoa svake metodske jedinice i svakog časa. Tabela 1 prikazuje detaljan sadržaj silabusa iz Patološke fiziologije na Departmanu za veterinarsku medicinu.

Tabela 1: Plan i program za predmet patološka fiziologija na studijskom programu veterinarske medicine 2000.godine i po dopunama iz 2005.godine

PROGRAM PREDAVANJA
Uvodni čas: predmet proučavanja patološke fizilogije; etiologija i patogeneza; tok i ishod bolesti (1)
Poremećaji zapremine krvi: podela i patogeneza (1)
Poremećaj metabilozma vode i Na; mehanizam nastanka edema (2)
Poremećaji acido-bazne ravnoteže; kompenzatorni mehanizmi, patogeneza, podela, karakteristike svakog tipa (2)
Hematopoeza: poreklo ćelija svih krvnih grupa i uticaj citokina na diferencijaciju i maturaciju (1)
Poremećaj broj eritrocita: a) policitemija, podela i patogeneza b) anemije: kompenzacijski mehanizmi; podela anemija; patogeneza svih oblika i mogućnosti dijagnoze uz karakteristične nalaze (4)
Poremećaji bele krvne slike: značaj pojedinih ćelija mijeloidne i limfatične loze i njihova uloga u fiziološkim i patofiziološkim stanjima; kvalitativni i kvantitativni poremećaji pojedinih krvnih ćelija; patogeneza i značaj (3)
Leukoza domaćih životinja: podela i definicija; etiologija; značaj onkogena, patogeneza, klinička dijagnoza poremećaja, značaj (3)
Poremećaji hemostaze: uloga i značaj trombocita; trombocitopatije; poremećaji plazmatskih faktora koaglacije krvi, hemofilije, fon Vilebrandova bolest, fibrinoliza, tromboza, DIC (diseminirane intravaskularne koagulacije) (4)
Akutno zapaljenje: etiopatogeneza (Poremećaji hemodinamike, ćelijska zapaljenjska reakcija, hemijski posrednici zapaljenjske reakcije); ishod informacije (3)
Reakcija domaćina na infekciju: definicija infekcije, odgovor akutne faze, značaj proteina akutne faze, febra, vrste i patogeneza groznica; septički šok, patogeneza (3)
Reakcije preosetljivosti: četiri tipa, patogeneza i posledice svakoga od njih (3)
Poremećaji funkcije respiratornog trakta: restriktivni i opstuktivni sa posebnim osvrtom na patogenezu astme, wmfizem pluća (sipljivost) i bolesti cilija; poremećaji ritma i kontrole disanja, BALT i njegova uloga, značaj metaboličke uloge pluća, distres sindrom (3)
Poremećaji kardiovaskularnog sistema: mehanizam funkcionisanja srca; poremećaji stvaranja i provođenja impulsa; insuficijencija levog i desnog srca; poremećaji kontrolnog krvotoka; srčane mane (seminarski rad); oboljenja perikarda; promene arterijskog i venskog pulsa; mogućnost dijagnostike; šok, definicija i podela, patogeneza (5)
Poremećaji funkcije digestivnog trakta: apetit i glad, poremećaji uzimanja i gutanja hrane, patogeneza, klinički značaj, indigestije kisele i bazne, patogeneza, klinički značaj; poremećaji motorike i pasaže, ileius, patogeneza i značaj; poremećaji egzokrine funkcije pankreasa; etiologija, patogeneza. Poremećaji varenja i resorpcije (4)
Poremećaji funkcije jetre: ikterusi, etiologija, patogeneza, zmačaj, diferencijalna dijagnostika pojedinih oblika (predaje se na vežbama zbog nedovoljnog broja časova) (2)
Poremećaj metabolizma kalcitriola hormona D, Ca, Mg, i P: rahitis, osteomalacija, osteoporoza, puerperalna pareza; etiologija i patogeneza poremećaja (3)
Poremećaj metabolizma ugljenih hidrata; uloga hormona u homeostazi; dijabetes, tipovi, patogeneza, klinička slika, mogućnost dijagnostikovanja; ketoza preživara, patogeneza, dijagnoza (3)
Poremećaji metabolizma masti: uloga hormona u metabolizmu masti; gladovanje, marazam, gojaznost, patogeneza; poremećaji lipoproteina krvi (VLDL, LDL, HDL, VHDL, hilomikroni), fiziološki odnosi, značaj i funkcija, poremećaji, patogeneza, učestalost pojavljivanja u domaćih životinja (2)
Poremećaj metabolizma belančevina; značaj hormona; hipo i hiperproteinemije, disproteinemije, poremećaji metabolizma pojedinih amino-kiselina, belančevinske malnutricije (1)
Poremećaji funkcije bubrega: glomerulopatije, tubulopatije, proteinurija, uremija, nefrotski sindrom, patogeneza i značaj (predaje se na vežbama zbog nedovoljnog broja časova) (2)
Poremećaji funkcije endokrinog sistema: poremećaj u lučenju hormona, receptorski poremećaji; patogeneza i kliničke manifestacije poremećaja funkcije (hiper i hipo) svake od endokrinih žlezda (4)
PROGRAM VEŽBI
Uvod u hematologiju: brojanje eritrocita, leukocita, određivanje koncentracije Hb, leukocitna formula, krvi razmaz, hematološki indeksi (2)
Policitemija: eksperimentalni model policitemije kod pacova, patogoneza policitemije, visinska bolest, policitemija rubra vera, klinička slika bolesti, određivanje Ht, Hb i broja eritrocita kod policitemije (2)
Hemolitička anemija: eksperimentalni model hemolitičke anemije kod pacova izazvane fenilhidrazinom, vrste hemolitičkih anemija, patogeneza, klinička slika određivanje broja eritrocita, koncentracija Hb i Ht, retikulociti, hematološki indeksi (2)
Akutna inflamacija: eksperimentalni model akutne inflamacije kod pacova, patogeneza akutne inflamacije; promene u perifefrnoj krvi, krvni razmaz, broj leukocita, leukocitna formula (2)
Seminarski rad (3)
Proteinemija: euproteinemija, hipoproteinemija, disproteinemija i paraproteinemija, određivanje koncentracije

proteina ukrvi, proteinske frakcije, proteini akutne faze (2) Klinički pregled mokraće II – deo: proteinurija, patogeneza, klinički značaj i dijagnoza, posebni oblici (hemoglobinurija, mioglobinurija), pregled sedimenta mokraće (2) Poremećaji funkcije bubrega: glomerulopatije, tubulopatije, uremija, nefrodski sindrom, patogoneza i značaj. Funkcionalno ispitivanje bubrega (2) Seminarski rad (3) Pregled želudačnog soka: određivanje slobodne i vezane HCL, ukupne kiselosti, mlečne kiseline (2) Poremećaji funkcije jetre: ikterusi, etiologija, patogeneza, značaj, deferencijalna dijagnostika pojedinih oblika. Funkcionalno ispitivanje jetre (2) Srčane mane – seminarski rad (2) Kolokvijum (2)
PROVERA ZNANJA
Praktični deo pismeno ili usmeno i teorijski deo pismeno i usmeno

Sa započinjanjem akreditacije visokoškolskih studijskih programa i ustanova u R.Srbiji, od 2007.godine, u silabus je osim sadržaja predmeta bilo potrebno predstaviti ciljeve i ishode učenja, odnosno šta je to što će studenti znati, razumeti, umeti da interpretiraju, urade i analiziraju posle savladanog predmeta. Ovo je bio početak modernog koncepta u kom je student stavljen u centar nastavnog procesa. U ovom periodu nastavnici nisu u punom obimu razumevali značaj ciljeva i ishoda učenja, pa su oni definisani veoma oskudno, u jednoj izjavnoj rečenici.

Od 2008-2013 (kada je započeo drugi ciklus akreditacije) patofiziologija se i dalje slušala kao jednosemestralni predmet. Međutim, u tom periodu su ovaj predmet počeli da drže i realizuju novi nastavnici i saradnici (autori ovog teksta) i patološku fiziologiju su od bazične nauke organizovali kao klinički orijentisanu nauku. Razlog ovakvog pristupa je što su nastavnici bili duboko svesni položaja ovog predmeta u ukupnom visokom veterinarskom obrazovanju i kurikulumu. Pored navedenog, nastavnici su puno vremena proveli u izučavanju ciljeva i ishoda učenja i Blumove taksonomije, čime su shvatili da studenti moraju poneti predmetno specifične veštine i znanja, a da ciljevi učenja moraju biti u kognitivnom i afektivnom domenu. Sve navedeno je dovelo do usložnjavanja materije iz patološke fiziologije, sa jedne strane i povećane težnje profesora da obimnu materiju predstave što jednostavnije sa velikim brojem primera i obaveznim jednostavnim ali moćnim zaključcima na kraju nastave. U tom periodu, nastavnici su primetili neke veoma važne pojave, koje su u mnogome doprinele daljem razvoju predmeta Patološka fiziolofija. Naime studentske ocene, kojima studenti ocenjuju nastavnike i nastavni proces bile su od 3,7-4,4 (u rasponu od 1 do 5). Nastavnici su dobijali niske ocene, jer su brzo prelazili gradivo, zbog velikog obima gradiva, veoma velike dinamike na ispitu, a najveća primedba je data zbog nedovoljnog samostalnog praktičnog rada studenata tokom vežbi na predmetu. Analize koje smo napravili posle nekoliko školskih godina pokazale su da veoma mali broj studenata (<10%) izlazi na ispit u januarskom ispitnom roku (odmah posle slušanja ispita), da do kraja školske godine ispit položi oko 30% studenata, a da veliki broj studenata prenosi Patološku fiziologiju u narednu godinu studija. Na četvrtoj godini studija započinje se sa ozbiljnim radom na internim bolestima životinja, pa je bez položene patološke fiziologije praćenje nastave i praktični rad studenata vrlo otežan. Ipak, razvoj nastavničkih komeptenci i razvoj premeta imali su veoma veliko opterećenje, koje bi ugrozilo dalji razvoj ove oblasti, a to je veoma mali fond časova u samo jednom semestru, bez bilo kakvog daljeg izučavanja kliničkih laboratorijskih disciplina kasnije tokom školovanja. Zbog toga je u drugom ciklusu akreditacije patološka fiziologija transformisana u grupu predmeta, koje se slušaju od treće do šeste godine studija.

Posle 2013.godine Patološka fiziologija je prevedena u dvosemestralni predmet, pa su tako nastale Opšta patološka fiziologija i Specijalna patološka fiziologija. Nastavnici su želeli da razdvoje izučavanje mehanizama i detektovanje patofizioloških markera od laboratorijskih alata, koji im u tome pomažu, pa je nastao jedan izborni predmet, koji se zove Laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji. Patofiziološko razmatranje kliničkih simptoma je od velikog značaja, a to se može izučavati tek posle savladane Opšte kliničke dijagnostike i sa prvim saznanjima u oblasti internih bolesti, pa je na četvrtoj godini studija ponuđen predmet Klinička patološka fiziologija. Na šestoj godini studija izučavaju se predmeti Klinička hematologija i biohemija životinja (različite vrste, shodno modulu), gde se zapravo studenti bave svakim pojedinačnim krvnim parametrom i upoznaju se sa preanalitičkim, analitičkim i postanalitičkim varijacijama vrednosti krvnih parametara, kao i sa diferencijalnom dijagnozom kod povećane ili smanjene vrednosti nekog krvnog parametra. Posle svih reformi studenti mogu biti u potpunosti sigurni da će steći veštine prvog dana, koje propisuju različiti standardi opisani u ranijim poglavljima. Da bi studenti bili motivisani za rad, poseban akcenat je stavljen na pravilno definisanje ciljeva i ishoda učenja i razvoj nastavnih metoda. Naime, da bi se održala motivisanost studenata oni moraju znati šta uče, ali moraju znati i zašto to uče i kako će to znanje i veštinu moći da upotrebe nakon diplomiranja. Zbog toga, smo se precizno pridržavali primene Blumove taksonomije i drugih saznanja u oblasti psihologije obrazovanja u definisanju ciljeva i ishoda učenja. U narednoj tabeli 2 nalaze se specifikacije opisanih predmeta (11).

Na integrisanim studijama veterinarske medicine u poslednjem, 12.semestru, studenti obavljaju stručnu praksu u trajanju od 300 sati. Od toga, 150 sati je intramuralna, a 150 sati ekstramuralna praksa. U okviru intramuralne prakse studenti obavljaju 20-30 sati u Laboratoriji za patološku fiziologiju, gde rade svakodnevni stručni posao pod nadzorom nastavnika.

Pored integrisanih studija, na doktorskim studijama veterinarske medicine u oblasti patološke fiziologije realizuje se nekoliko izbornih predmeta: Laboratorijska dijagnostika internih bolesti životinja, Povezanost nervnog, endokrinog i imunološkog sistema i Stres i distres-fiziologija i patofiziologija stresnog odgovora kod životinja. Možemo konstatovati da su ovi predmeti veoma popularni kod studenata i od 2013.od kada se realizuju svake školske godine imamo zainteresovane studente za gotovo sve predmete (12).

Od 2020.godine na Departmanu za veterinarsku medicinu realizuju se i Specijalističke akademske studije, gde postoji dva predmeta iz oblasti kliničke patologije, koji se bave laboratorijskom dijagnostikom i patofiziološkom interpretacijom poremećaja zdravlja životinja i to su: Klinička patologija i dijagnostika bolesti životinja i Klinička patologija i dijagnostika poremećaja metabolizma životinja (13).

Tabela 2: Ciljevi ishodi i sadržaj predmeta iz oblasti patološke fiziologije na dodiplomskim, integrisanim studijama veterinarske medicine posle reforme 2013.godine

Naziv predmeta: Opšta patološka fiziologija
Cilj predmeta Predmet omogućava da studenti steknu: 1) znanja o mehanizmima patološkog delovanja različitih etioloških faktora i karakteristikama opštih poremećaja homeostaze, metabolizma i adaptacije koji nastaju u organizmu i koji su zajedniči za poremećaj zdravlja različitih organskih sistema; 2) veštine primene osnovnih laboratorijskih metoda u patološkoj fiziologiji; 3) sposobnost tumačenja patofizioloških rezultata i tumačenja opšteg poremećaja zdravlja životinja.
Ishod predmeta Posle savladanog gradiva i položenog ispita student će: 1) moći da prepozna, grupiše, nabroji i objasni opšte

etiološke činioce i adaptacione procese prilikom postojanja poremećaja zdravlja, 2) da objasni i poveže vezu između delovanja etioloških činilaca i zdravlja životinja, 3) da primeni odgovarajuće laboratorijske standarde u cilju pravilne dijagnostike opštih poremećaja zdravlja, 4) da na osnovu zadatih slučajeva vrši analizu laboratorijskih rezultata i izvede zaključak o tipu opšteg zdravstvenog poremećaja koji postoji, 5) da organizuje i prikupi sve relevantne podatke o delovanju etioloških činilaca i tipovima promene koje u organizmu izazivaju, 6) da oceni stepen narušenosti zdravlja životinja u skladu sa nalazima i jačinom delovanja noksi.

Sadržaj predmeta

Teorijska nastava

Definicija i mesto patološke fiziologije, Patofiziologija delovanja etioloških faktora, Patofiziologija homeostaze – opšta razmatranja, Patofiziologija stresa i opšteg adaptacionog sindroma kod životinja, Patofiziologija inflamacije, imunog odgovora i septičnog šoka, Patofiziologija tumorske proliferacije, Patofiziologija poremećaja metabol vode, Patofiziologija acido-bazne rabnoteže, Patofiziologija poremećaja metabolizma masti, proteina, ugljenih hidrata i jona, Poremećaj energetskog metabolizma životinja.

Praktična nastava

Metode laboratorijskog rada u patološkoj fiziologiji; Pregled i analiza laboratorijskih nalaza kod eksperimentalnih modela opekotina, smrzavanja, jonizujućeg zračenja, akutnog stresa;Određivanje pokazatelja inflamacije; Određivanje parametara u septičnom šoku; Glavni laboratorijski nalazi u paraneoplastičnom sindromu; Dijagnostika poremećaja metabolizma masti, proteina, ugljenih hidrata i jona.

Naziv predmeta: Specijalna patološka fiziologija

Cilj predmeta

Cilj ovog predmeta je da studenti steknu: 1) znanja o patofiziološkim procesima koji postoje kod bolesnih stanja i procesa specifičnih za različite organske sisteme, 2) veštine primene laboratorijske metode i skrining panele za porcenu zdravlja pojedinih organiskih sistema, 3) sposobnosti da na osnovu patofizioloških metoda donesu zaključak o vrsti funkcionalnog poremećaja koji postoji kod životinje.

Ishod predmeta

Kada student savlada i položi ovaj predmet očekujemo sledeće ishode: 1) student će umeti da ukratko opiše i utvrdi najvažnije poremećaje funkcionalnog statusa pojedinih organa i organskih sistema, 2) student će umeti da poveže promene u funkcionalnom statusu organa sa njihovim uzrocima i znacima koji govore u prilog postojanja poremećaja, 3) student će umeti da primeni laboratorijske metode u dijagnostici poremećaja funkcionalnog statusa pojedinih organa i sistema, 4) student će moći da izvede zaključak o tipu i intenzitetu poremećaja funkcionalnog stanja na osnovu laboratorijskih nalaza pacijenta, 5) student će moći da uporedi i poveže sličnosti i razlike laboratorijskih analiza kod različitih vrsta poremećaja, 6) student će umeti da razlikuje osnovne poremećaje funkcije organa i sistema i odlučiće se za pravilne procedure za njihovo dokazivanje

Sadržaj predmeta

Teorijska nastava

Patofiziologija poremećaja crvene i bele krvne loze i trombocita; Patofiziologija poremećaja digestivnog tubusa, predželudaca preživara, egzokrinog pankreasa i jetre; Patofiziologija poremećaja respiratrnog sistema; Patofiziologija poremećaja kardiovaskularnog sistema; Patofiziologija poremećaja urinarnog sistema, Patofiziologija poremećaja endokrinog sistema; Patofiziologija poremećaja nervnog sistema, čula i ponašanja životinja; Patofiziologija poremećaja lokomotornog sistema životinja.

Praktična nastava

Algoritam dijagnostike pojedinih organiskih sistema – laboratorijski skrining paneli; Laboratorijsko određivanje važnijih parametara iz dijagnostičkih panela za svaki organski sistem; Analiza rezultata dobijenih u laboratorijskom radu ili rezultata iz slučajeva dostupnih iz prakse ili literature.

Naziv predmeta: Laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji

Cilj predmeta

Cilj ovog predmeta je da studenti steknu: 1) znanja o osnovnim laboratorijskim tehnikama u patološkoj fiziologiji i njihovim svojstvima, a to su tehnike razdvajanja i merenja čija je primena na biološkim materijalima ali i na živim životinjama, 2) veštine pravilne primene pojedinih laboratorijskih tehnika, 3) sposobnosti analize rezultata dobijenih različitih laboratorijskim merenjima.

Ishod predmeta

Posle završenog kursa student će umeti da: 1) uredi i prikupi materijal za različite laboratorijske analize, 2) izvede najčešće korišćene analize, 3) protumači osnovne metodološke postupke, 4) objasni dobijene rezultate, 5) primeni različite metode u svakodnevnom radu, 6) analizira rezultate i greške nastale u radu.

Sadržaj predmeta

Teorijska nastava- Mesto patofiziološke-kliničke laboratorije u svakodnevnom radu veterinara; Organizacija veterinarske patofiziološke laboratorije; Priprema uzoraka za analizu u kliničkoj laboratoriji; spektrofotometrijske metide; elektrohemijske metode; Osmometrija; Enzimske analize; Imunihemijske metode; Suva hemija; Elektroforetske metode; Hromatografije; Tehnike analize DNA; Hematološki analajzeri;

Automatizacija rada u laboratoriji; Važnije laboratorijske procedure u dijagnostici pojedinih bolsnih stanja i procesa; Pravilna analiza laboratorijskih rezultata – klinička upotrebljvost dijagnostičkih testova; Akreditacija veterinarske kliničke laboratorije – pravilnici i postupci.
Praktična nastava
Upoznavanje sa osnovnim elementima glavne i pomoćne laboratorijske aparature; Uticaj loše pripreme uzorka na laboratorijske rezultate-značaj hemolize; Određivanje krvne slike klasičnim mikroskopskim pregledom i pomoću analajzera; Izvođenje važnijih biohemijskih reakcija za određivanje koncentracije proteina, glukoze, uree, AST, ALT manuelno i u automatizovanom postupku; Identifikacija i merenje proteina pomoću ELISA metode; Izvođenje elektroforeze u promenljivim uslovima; Menadžment laboratorijskog rada i principi automatizacije; Studije slučaja u cilju pravilnog tumačenja laboratorijskog nalaza.

Naziv predmeta: Klinička patološka fiziologija i laboratorijska dijagnostika

Cilj predmeta
Cilj ovog predmeta je da studenti steknu: 1) znanje o patofiziologiji različitih internih oboljenja životinja. 2) veštine prepoznavanja osnovnih patofizioloških procesa u različitim oboljenjima, 3) sposobnosti pravilne dijagnostike internih bolesti primenom i analizom funkcionalnih testova.

Ishod predmeta
Posle savladanog gradiva i položenog ispita studenti će moći da: 1) definišu i opišu patofiziološke procese kod velikog broja internih bolesti životinja, 2) utvrde i ustanove diferencijalnu dijagnozu na osnovu postojećih simptoma bolesti i laboratorijskih funkcionalnih testova, 3) izaberu adekvatne dijagnostičke testorve i konstruišu etiopatogenezu poremećaja koji postoji kod životinje, 4) izvrše analizu i klasifikaciju laboratorijskih nalaza kod različitih kliničkih slučajeva, 5) daju argument o mogućim komplikacijama i ishodima oboljenja shodno izmenjenom funkcionaln om statusu organa i sistema, 6) rangiraju stepene komplikacija kod različitih oboljenaj shodno prisustvu kompenzatornih procesa.

Sadržaj predmeta
Teorijska nastava
Klinička patofiziologija i etiopatogenetski algoritmi nastanka poremećaja hemostaze, uobličenih elemenata krvi, digestivnog tubusa, pridruženih digestivnih žlezda, respiratornog sistema, kardiovaskularnog sistema, urinarnog sistema, endokrinog sistema, nervnog sistema, lokomotornog sistema životinja.

Praktična nastava
Za sve vrste poremećaja vršiće se vežbe prema kliničkim slučajevima. Za svaki slučaj će biti dat uvod, zatim rešavanje etiopatogenskog algoritma, zatim laboratorijski i drugi nalazi kojim se taj poremećaj potvrđuje i njihovo tumačenje. Analizom što većeg broja patofizioloških indikatora u različitim kliničkim poremećajima studenti će steći saznanje o primeni kliničke patološke fiziologije u svakodnevnom radu.

Naziv predmeta: Klinička hematologija i biohemija kućnih ljubimaca / farmskih životinja i konja

Cilj predmeta
Cilj ovog predmeta je da studenti steknu: 1) znanja o hematološkim i biohemijskim znacima važnijih poremećaja zdravlja kućnih ljubimaca, 2) veštine primene osnovnih laboratorijskih metoda u kliničkoj hematologiji i biohemiji, 3) sposobnost vršenja dijagnostike i diferencijalne dijagnostike pomoću hematoloških i biohemijskih laboratorijskih nalaza.

Ishod predmeta
Kada student savlada i položi ispit moći će da: 1) definiše i opiše hematološke i biohemijske nalaze kod različitih bolesti kućnih ljubimaca, 2) poveže i objasni vezu između hematoloških i biohemijskih poremećaja i postojanja različitih oboljenja, 3) raspoznaje i proceni patognomonične laboratorijske nalaze, 4) primeni najvažnije laboratorijske tehnike u dujagnostičkom postupku, 5) oceni dobijene rezultate laboratorijskih analiza, 6) prosudi o postojanju komplikacija i ishodu bolesti.

Sadržaj predmeta
Teorijska nastava
Klinička Klinička hematologija i biohemija – hematološki i biohemijski markeri u dijagnostici važnijih poremećaja homeostaze, bolesti digestivnih organa, bolesti respiratornog sistema, bolesti kardiovaskularnog sistema, bolesti urinarnih organa, bolesti endokrinih žlezda, bolesti nervnog sistema, bolesti lokomotornog sistema životinja.
Praktična nastava
Laboratorijsko određivanje glavnih hematološki i biohemijski markeri u dijagnostici važnijih poremećaja homeostaze, bolesti digestivnih organa, bolesti respiratornog sistema, bolesti kardiovaskularnog sistema, bolesti urinarnih organa, bolesti endokrinih žlezda, bolesti nervnog sistema, bolesti lokomotornog sistema životinja. Studije slučaja i klinički primeri.

RAZVOJ NASTAVNIH METODA I PROVERE ZNANJA STUDENATA NA PREDEMTIMA IZ OBLASTI PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU U NOVOM SADU – NASTAVA KOJA VODI KA UČENJU

U periodu 2000-2007 nastavu iz patološke fiziologije držao je prof.dr Milenko Kulauzov sa Medicinskog fakulteta u Novom Sadu. Studenti su kao literaturu za pripremu ispita koristili udžbenik Đurđa Đurđevića „Patološka fiziologija domaćih životinja“, sa Veterianrskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Pored navedenog studenti su rado odlazili na predavanja i vežbe prof.Kulauzova koji je bio zanimljiv predavač i rado slušan profesor. Dinamika predavanja je bila takva da su studenti mogli da naprave kvalitetne beleše sa predavanja i vežbi. Za pripremu ispita studenti su koristili i „Zbirku pitanja iz patološke fiziologije“ čiji je autor prof.Kulauzov. To je zbirka pitanja višestrukog izbora, sa detaljnim objašnjenjima svih komplikovanih pitanja na kraju, a u izdanju Medicinskog fakulteta u Novom Sadu. Iako je patološka fiziologija patobiološka nauka, u zbirci su nedostajala pitanja specifična za različite životinjske vrste kojima se bavi veterinarska medicina. U tom periodu postojao je pismeni deo ispita, gde se odgovaralo na navedena pitanja i usmeni deo ispita koji se pripremao sa predavanja i iz beležaka. Predviđeni su i seminarski radovi studenata. Želimo da istaknemo da je prof.Kulauzov puno radio na povezivanju i integraciji patofiziologa sa visokoškolskih ustanova u regionu.

U priodu posle 2008. godine novi nastavnici počinju da realizuju predmet patološka fiziologija. Od 2008. godine nastavu počinju da izvode tada doc.dr Branislava Belić i asistent Marko Cincović (autori ovih tekstova). Patološka fiziologija postaje klinički orijentisan predmet, pa se umesto eksperimentalnih modela na praktičnom delu nastave sluša o patofiziološkim markerima i algoritmima značajnim za dijagnostiku pojedinih patofizioloških procesa i stanja. Nastava, bez obzira na oblik nastavnih metoda koji se primenjuje, trebala bi da bude potkrepljena adekvatnim nastavnim materijalom. Pod nastavnim materijalom podrazumevamo izvode sa predavanja, udžbenike, praktikume, radne sveske i ostale materijale za učenje koji na različite načine bivaju dostupni studentima tokom nastavnog procesa. Nastavnici su odmah napravili nove prezentacije i ostale nastavne materijale koji su sadržali najsavremenije informacije iz oblasti patološke fiziologije, a korišćen je udžbenik Tatjane Božić i pomenuta zbirka pitanja prof.Kulauzova. U tom periodu intenzivno se povećava obim nastave iz klinički orijentisane hematologije (jer je B.Belić po primarnoj vokaciji transfuziolog-hematolog), a nastava biva posebno obogaćena primerima i metodama iz oblasti dijagnostike poremećaja metabolizma životinja, posebno preživara (što je bio predmet istraživanja M.Cincovića). Ovo povećanje obima materijala moralo je biti propraćeno adekvatnom diseminacijom materijala. Tako su prezentacije i drugi materijali bili najpre narezivani na CD i deljeni studentima na kraju semestra, da bi sa razvojem pametnih telefona i lake dostupnosti internet, sav materijal bio okačen na sajt Departmana za veterianrsku medicinu na stranici koja je namenjena Patološkoj fiziologiji ili distribuiran preko različitih Google platformi ili mejlom.

U veoma kratkom roku nastavnici na predmetu su počeli da sublimiraju i revidiraju svoje nastavne metode i da pripremaju udžbeničku literature za studente. Do sada su objavljeni različiti udžbenici i praktikumi koji verno prate nastavni proces na Patološkoj fiziologiji:

1. Branislava Belić: *Priručnik za polaganje ispita iz patološke fiziologije*. Novi Sad, 2009, ISBN 978-86-7520-173-1
2. Marko R. Cincović: *Toplotni stres krava*. Monografija, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2010, ISBN 978-86-7244-911-2
3. Branislava Belić, Marko R. Cincović: *Radna sveska sa priručnikom za polaganje ispita iz patološke fiziologije*.

Novi Sad, 2012, ISBN 978-86-7520-247-2
4. Branislava Belić, Marko R. Cincović: *Praktikum iz patološke fiziologije*. Udžbenik. Novi Sad, 2012, ISBN 978-86-7520-246-2
5. Radojica D. Đoković, Marko R. Cincović, Branislava M. Belić: *Fiziologija i patofiziologija metabolizma krava u peripartalnom periodu*. Udžbenik, Novi Sad, 2014, ISBN 978-86-7520-309-4
6. Branislava Belić, Marko R. Cincović: *Patološka fiziologija*. Udžbenik, Novi Sad, 2015, ISBN 978-86-7520-353-7
7. Marko R. Cincović: *Metabolički stres krava*. Monografija, Novi Sad, 2016, ISBN 978-86-7520-377-3.
8. Belić B.: *Patofiziologija toksičnog dejstva hiperbaričnog kiseonika na membranu eritrocita*, Monografija, Novi Sad, 2016, ISBN
9. Marko R. Cincović (ur.), Jože Starič (ur.), Branislava Belić, Jožica Ježek, Silvestra Kobal, Zorana Kovačević, Martina Klinkon, Marija Nemec, Dragica Stojanović: *Laboratorijska istraživanja metaboličkog statusa goveda/ Laboratorijske raziskave pesnovnega stanja goveda*. Monografija, Novi Sad/Ljubljana 2017, ISBN 978-86-7520-440-4
10. Branislava Belić, Marko R. Cincović: *Laboratorijske tehnike u patološkoj fiziologiji*. Udžbenik, Novi Sad, 2019, ISBN 978-86-7520-474-9
11. Marko R. Cincović, Branislava Belić, Ivana Lakić: *Praktikum iz laboratorijskih tehnika u patološkoj fiziologiji*. Novi Sad, 2019, ISBN 978-86-7520-475-6.

Slika 1: Deo nastavnog materijala iz Patološke fiziologije na Departmanu za veterinarsku medicinu u Novom Sadu

Pored literature, koja je od velikog značaja za usvajanje gradiva i nastavni proces, razvoj laboratorijskih kapaciteta pomoću kojih će studenti moći da usvoje određene veštine. Zbog toga je sa kliničkog intramuralnog rada na Departmanu za veterinarsku medicinu osnovana i *Laboratorija za patološku fiziologiju* (Slika 2). Laboratorija za patološku fiziologiju predstavlja glavnu kliničku laboratoriju u kojoj se vrše hematološka, biohemijska i endokrinološka ispitivanja. Studenti pod nadzorom nastavnika rade sa kliničkim materijalom, odnosno njihovim duplikatima koji se čuvaju za potrebe nastave, a rade i sa kontrolnim materijalima i njihovim duplikatima. Svaki student će pored osnovnih patofizioloških principa po završetku studija biti obučen za rad na različitim aparatima uz primenu principa dobre laboratorijske prakse. Česti su slučajevi da studenti posle redovne nastave ostaju u laboratoriji da rade sa mlađim saradnicima i istraživačima i pomažu im u redovnom laboratorijskom radu. Ovde je bitno napomenuti da od 2016.godine praktični rad sa studentima u velikoj meri realizuje i istraživač-stipendista Ivana Lakić,

koja se još od studentskih dana opredelila za bavljenje patološkom fiziologijom. Njeno interesovanje je patofiziologija inflamacije kod kućnih ljubimaca i značajno doprinosi unapređenju nastave vezano za ove životinjske vrste.

Sve do sada pomenuto, literatura, nastavni materijali i interakcija studenata i nastavnika moraju biti međusobno prožeti i živi kako bi mogli da služe svrsi, odnosno da stvore znanje. Na patloškoj fiziologiji kombinujemo formativnu i sumativnu procenu znanja studenata, odnosno procenu znanja tokom nastave i procenu znanja po završenoj nastavi. Pored toga, vodimo računa da se razviju sve dimenzije znanja: poznavanje činjenica (poznavanje terminologije i specifičnih činjenica); konceptualno znanje (poznavanje teorija, principa i modela); proceduralno znanje (znanje postupaka i procedura) i sticanje metakognitivnog znanja (učenje saznajnih procesa potrebnih za saznavanje drugih znanja). Na sve ove dimenzije znanja primenjuje se šest nivoa ishoda učenja prema Blumovoj taksonomiji (14), pa se tako koncipira nastavni proces i proces provere znanja studenata. To znači da se koriste sledeći tipovi pitanja i zadataka: zadaci koji traže reprodukciju, zadaci koji traže razumevanje sadržaja, zadaci koji traže transfer i primenu znanja i van konteksta oblasti/lekcije, zadaci analize i sinteze, zadaci koji traže stvaralačku produkcijum zadaci koji traže evaluaciju, argumentovano vrednovanje ili lični stav.

Dobro balansiranje pitanja i njihova procena moguća je uz dodatno izučavanje didaktike, psihologije obrazovanja i dokimologije (15-19) i pohađanje kurseva u oblasti didaktike (M.Cincović je bio polaznik obuke o pisanju i oceni ciljeva i ishoda učenja u kurikulumima). Procena se vrši na osnovu poređenja sa unapred poznatim bodovnim kriterijumom. Koriste se pitanja višestrukog izbora, pitanja dopunjavanja, spajanja, kratki odgovori, pitanja gde se uspostavlja redosled, kratki slučajevi, analiza mikroskopskih slajdova krvnih razmaza, fotografije nekih postupaka snimanih tokom ispravnog ili neispravnog rada u laboratoriji itd.

Slika 2: Pogled na Laboratoriju za patološlu fiziologiju, na centralnom pultu su aparati za merenje, a oko njih je mesto za pripremu i radna mesta za studente, dok je prijem uzoraka i izdavanje rezultata zasebna prostorija. U laboratoriji postoji i 20 tableta, Wi-Fi konekcija, kao i dva stabilna računara. Biblioteka poseduje preko 1000 naslova

Studenti se tokom predispitnog perioda dok se realizuje nastava aktivno bave nastavnim materijalom i učestvuju u nastavnom procesu na predmetima iz oblasti patološke fiziologije, što rezultira sticanjem iskustava tokom učenja i različitih znanja, čime se umanjuje stres i povećava uspeh prilikom polaganja završnog dela ispita. Zbog toga smo razvili nastavne metode takve da studenti tokom školske godine prođu i

aktivno koriste celokupnu literature, bez tendencije da ih teramo da uče prostu reprodukciju materijala i činjenica. Na opštoj i specijalnoj patološkoj fiziologiji studenti slušaju klasična predavanja. Predavanja su podeljena u manje celine. Uvek se vodi računa o principu da im se kaže o čemu će biti reči, zatim da im se to i kaže i na kraju da im se kroz zaključivanje kaže šta je to što im je rečeno tokom predavanja. Studenti svakog trenutka mogu da prekinu profesora i postave pitanje koje žele, a rado preporučujemo studentima da vode beleške. Postavljanje pitanja je pouzdan znak da se u studentima odvija misaoni proces tokom izođenja nastave. Na vežbama studenti tokom teorijskog dela nastave imaju praktikum i zbirku gde pitanja u njima prate slajdove prezentacija i dinamiku izlaganja i dužni su da odgovore na pitanja u praktikumu i zbirci. Na taj način studenti postaju aktivni slušaoci. Sa razvojem mobilnih telefona, preko internet platformi sastavili smo interaktivna pitanja koja se aktiviraju tokom nastave i na koje studenti odgovaraju, pa im se u realnom vremenu ocenjuje znanje i sakupljaju bodovi. Tokom nastavnog procesa aktivno im je čulo sluha, čulo vida i motoriča ruku, tako da su šanse za razvoj trajnih sinapsi mnogo veće nego da su puki slušaoci. Ipak, frekvencija postavljanja pitanja ne sme biti prečesta kako ne bi ugušila nastavni proces i razvoj misaonog toka kod studenata, a pitanja se odnose na prepoznavanje materije o kojoj se govori. Prilikom rada na aparatima u Laboratoriji za patološku fiziologiju (Slika 2) studenti prolaze detaljnu obuku, a u praktikumu iz laboratorijskih tehnika opisano je slikovito i detaljno korak po korak sve od provere pre paljenja aparata, samog paljenja, do izvođenja testova, pravilnog ispisa rezultata, gašenja aparata i provera po gašenju. Studenti uvek i na svakom času imaju literaturu sa sobom i aktivno je koriste. U budućnosti ćemo napraviti posebne online platforme koje simuliraju rad na aparatu i pripremu uzoraka, pa će pre mauelnog rada studenti proći kroz period simulacije, kako bi utvrdili svoje proceduralno znanje.

Tokom analize kliničkih slučajeva koriste se slučajevi sa naše klinike, slučajevi iz zbirke slučajeva, kao i prikazi slučajeva iz svetske literature. Tumačenje slučajeva vrši se primenom integrativne patofiziologije, uz postavljanje različitih algoritama i poznavanje patofizioloških čvorova. Prilikom analize, a posebno prilikom interpretacije slučajeva vodimo računa da se koriste savremene metode “evidence based veterinary medicine” koje uče kako da se pomoću PICO/CAPO sistema pravilno postave pitanja i nađu adekvatni odgovori (20, 21). Da bi studenti mogli da nesmetano rade na svojim slučajevima moraju usvojiti određene digitalne kompetence, koje stiču kroz rad sa nastavnicima na predmetu. Pored navedenog, trudimo se da tokom izučavanja onog dela patofiziologije koji se bavi proceduralnim znanjima iz oblasti laboratorijske medicine studenti shvate da je bavljenje laboratorijom ozbiljan posao i da moraju imati i razvijene preduzetničke veštine, što znači da moraju ponuditi pravu uslugu na pravi način, odnosno ponuditi pravi dijagnostički panel testova u pravom momentu (22).

Studenti dva puta u toku semestra imaju test koji uključuje svu materiju sa predavanja i vežbi i na kom mogu da koriste celokupnu literature koju imaju. Cilj ovih testova je da studenti nauče da aktivno čitaju literaturu i da u momentu spremanja za završni ispit imaju razvijene mape u glavi gde se šta od materijala nalazi. Na tim testovima se vodi računa da budu zastupljenja pitanja tako da se ocenjuje svih 6 nivoa ishoda ishoda učenja prema Blumovoj taksonomiji (balansiraju se pitanja koje pokazuju studentsko znanje, razumevanje, primenu, kao i sposobnost analize, sinteze i evaluacije). Pored ovih pitanja koje spadaju u procenu kognitivnog domena, u nešto manjoj meri su prisutna i pitanja afektivnog domena, odnosno domena emocionalnih odgovora, gde se ispituje da li je učenik usvojio neku ideju, da li ume da je vrednuje i da li je razvio sopstvene načine odlučivanja i modele ponašanja na osnovu vrednosti koje je usvojio.

Studenti su u pojedinim generacijama obavezno, a u pojedinim po želji, trebali da napišu i prezentuju seminarski rad, čija je tema takva da ima za cilj pordubljivanje znanja iz oblasti koja se predaje. Seminarski radovi su pripremani iz originalnih istraživanja do sada publikovanih radova. Ovde su studenti učili elemente akademskog pisanja, a posebno smo se trudili da povećamo čitalačku pismenost kod studenata., koja podrazumeva: a) sposobnost pronalaska informacija primenom različitih medija i njihovo razumevanje i kritičko promišljanje, b) vlastito izražavanje, oblikovanje misli i ideja u pisani tekst kao proizvod pročitanih sadržaja; c) razumevanje, korišćenje i promišljanje o pisanim tekstovima radi ličnih ciljeva, sticanja i razvijanja znanja i celoživotnog učenja (23, 24).

Posle završenog semestra i skupljanja predispitnih bodova studenti mogu da izađu na završni ispit. Na završnom ispitu pitanja se dobijaju iz postojeće literature, ali se ona ne može koristiti na ispitu. Ispit se sastoji od testa (pitanja višestrukog izbora iz naše zbirke), praktičnog dela (najčešće se polaže pismeno postavljanjem pitanja za procenu veština i znanja koja se nalaze u okviru priručnika i praktikuma) i na kraju usmeni ispit koji se priprema iz udžbenika, a postoji spisak pitanja za polaganje usmenog dela ispita. Pre nego što student izađe na završni usmeni ispit, nastavnici se obaveštavaju o njegovim osobinama kroz analizu VARK testa o stlovima učenja, uspešnosti priliko odgovaranja na različite vrste pitanja i na osnovu kvaliteta znanja pokazanog na pismenom i praktičnom delu završnog ispita. Ovo je veoma značajno jer na taj način možemo predpostaviti na kojim pitanjima i kod koje vrste gradiva studenti mogu imati problem u izlaganju i iterpretiranju, pa na tim kritičnim račkama se trudimo da pomognemo studentu. Neuspešnost polaganja završnog usmenog ispita je vrlo mala, jer kada student savlada celokupnu materiju pre toga, onda mu ostaje samo da ta znanja lepo uobliči i izloži na usmenom ispitu. Studente na usmenom ispitu diskvalifikuje ako ne umeju da definišu osnovne pojmove i patofiziološke procese, što je elementarni nivo znanja, pa se onda ne možemo peti dalje na Blumovoj lestvici ishoda učenja. Zbog želje da studenta podržimo na završnom ispitu, da mu rasvetlimo određene delove gradiva ili nešto pojednostavimo, ispit je postao jedno od mesta gde studenti još uvek mogu aktivno da uče materiju od nastavnika, a ne samo da daju odgovore na pitanja.

Sa razvojem molekularnih metoda, metoda proteomike, genomike i drugih koje su značajno produbile znanja o brojnim bolesnim procesima i stanjuma, u budućnosti će biti potrebno dodatno produbljivanje i proširivanje nastavnog gradiva za pripremu ispita iz patološke fiziologije. Ovo je posebno važno jer sve metode koje su danas nove i sofisticirane u skorijoj budućnosti će postati široko dostupne i rutinske, pa je važno da se tačno na vreme inoviraju nastavni sadržaji i poboljšaju nastavne metode. Ovo se ne sme desiti prerano ili kao rezultat toga što nastavnici prate savremena naučna dostignuća. Svako dostignuće u nauci da bi ušlo u nastavni proces na dodiplomskim studijama mora dočekati fazu primene i tek onda kao jasno i rafinisano znanje ući u kurikulume. Razlog tome je što mi školujemo doktore veterinarske medicine kao buduće stručnjake u praksi. Sasvim druga stvar je kada su u pitanju doktorske akademske studije, gde se potpuno dubinski i detaljno dopunjava sadržaj nastavnog materijala sa najnovijim istraživanjima, jer su doktoranti mladi istraživači koji će stvarati nova naučna znanja.

NAUČNI I STRUČNI RAD U OBLASTI PATOLOŠKE FIZIOLOGIJE NA DEPARTMANU ZA VETERINARSKU MEDICINU

Univerzitetski profesor predaje u oblasti kojom se praktično bavi i koju istražuje, što je nerazdvojiva celina (25). Zbog toga je potrebno da, poštujući principe Humboltovskog koncepta univerziteta, nastavnici podjednako rade nastavne,

naučno-istraživačke i stručne-praktične. Ovo je posebno neophodno u biomedicinskoj oblasti, kojoj pripada i veterinarska medicina, gde aktivno izvođenje nastave bez predhodnog dobrog poznavanja materije i iskustva nastavnika u praksi može smanjiti kvalitet nastave, a može biti i opasno. Zato je razvijena *Laboratoriju za patološku fiziologiju* koja pruža laboratorijske usluge klijentima fakultetske veterinarske klinike, ali i svih drugih veterianrskih subjekata koji uzorke krvi, urina ili drugih materijala šalju u laboratoriju na analize. Pored navedenog veliki broj uzoraka krvi sa farmi goveda, svinja, ovaca i koza svakodnevno pristiže kako bi se odredio metabolički profil i hranidbeni i zdravstveni status jedinki. Veliki broj uzoraka potiče iz ogleda i eksperimenata koje sprovode istraživači sa novosadskog ali i drugih univerziteta u Srbiji koji svoje analize rade u našoj laboratoriji. Rad laboratorije definisan je posebnim pravilnikom (26) i ona je registrovana u Upravi za veterinu Ministarstva poljoprivrede Srbije.

U okviru Laboratorije za patološku fiziologiju realizovano je više od 20 završnih radova i doktorskih disertacija. U celokupan praktični rad su uključeni nastavnici sa predmeta patološka fiziologija, a pored izvođenja analiza, svako u svojoj oblasti vrši interpretacije nalaza i daje preporuke za dalje postupanje. Od 2017.godine do kraja 2019. godine laboratorija je izvršila preko 25.000 analiza. U bliskoj budućnosti završićemo akreditaciju laboratorije prema najsavremenijim ISO standardima. Trenutno radimo unutrašnju i spoljašnju kontrolu kvaliteta, gde postižemo veoma dobre rezultate sa aspekta tačnosti i preciznosti izvedenih analiza.

U okviru laboratorije redovno se održavaju kontinuirane edukacije veterinara iz oblasti laboratorijske medicine i patološke fiziologije. Nastavnici na Patološkoj fiziologiji su bili predavači po pozivu na preko 20 domaćih i međunarodnih skupova. Nastavnici su učestvovali u preko 15 komisija za izbor u zvanje nastavnika i saradnika.

Sledeći značajan aspekt je naučno-istraživački rad nastavnika na oblasti patološke fiziologije. Nastavnici na predmetu patološka fiziologija spadaju u red veoma produktivnih nastanika. Od 2008, kada su preuzeli oblast patološke fiziologije nastavnici su objavili veliki broj naučnih radova i to: preko 40 radova sa SCI liste, preko 150 radova u nacionalnim časopisima, preko 150 radova na skupovima, 10 naučnih monografija i 5 tehničkih rešenja. Aktivni nastavnici na predmetima iz oblasti patološke fiziologije (autori ovog teksta) bili su koordinatori ili učesnici više od 15 naučnih projekata, koji su bili EU, bilateralni, multilateralni ili nacionalni projekti. O obimu produkcije kvalitetnih naučnih radova međunarodnog značaja na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu govori i činjenica da se Univerzitet u Novom Sadu nalazi među 300 najboljih na svetu u oblasti veterinarske medicine na prestižnoj Šangajskoj listi za 2018. i 2019. godinu (25).

I na kraju, nastavnici na oblasti patološka fiziologija su obavljali ili trenutno obavljaju različite funkcije u okviru Poljoprivrednig fakulteta i Univerziteta u Novom Sadu, što u mnogome pomaže da se sagleda širi kontekst razvoja oblasti veterinarske patološke fiziologije u budućnosti. Potrebno je stalno usavršavati nastavne metode u kojima će student rešavajući određene zadatke postati centar nastavnog procesa, a sa druge strane nastavnici moraju pripremati nastavu i iznositi gradivo na taj način da u studentima probude njihovu unutrašnju misaonu aktivnost (27). Tako dobijamo kvalitetne, misleće doktore veterinarske medicine, koji su spremni da razumeju i leče bolesti, ali i da svojim ukupnim radom postanu nezaobilazna karika u društvu. *Vivat Medicina Veterinaria Universitatis Studiorum Neoplantensis!*

LITERATURA

1. *Churilov L.P. From physiology of disease to systemic pathobiology: history and current trends in pathophysiology. Psychiatr Danub. 2015, 2: 550-570.*
2. *Belić B., Cincović M.R. Patološka fiziologija. Udžbenik, Novi Sad, 2015.*
3. *Cincović M.R., Belić B., Stevančević M., Toholj B., Starič J., Smolec O., Ćutuk R., Potkonjak A., Stojanac N., Stevančević O. Sistem kvaliteta u veterinarskom obrazovanju u Srbiji i EU – konstruktivno usaglašavanje kurikuluma. Letopis naučnih radova 2015, 39(1): 108-120.*
4. *ESEVT SOP, Zagreb; Annex 2. List of subjects and Day One Competences. 2019.*
5. *Directive 2005/36/EC of the European parliament and of the council of 7 September 2005 on the recognition of professional qualifications. Official Journal of the European Union.*
6. *Monos E. International Society for Pathophysiology—Its short history. Acta Physiologica Hungarica 2008; 95(1): 119-125.*
7. *Kovač Z. Beijing declaration on medical pathophysiology education. Adv Physiol Educ 2007,31: 387–388.*
8. *ISP (2006): ISP Declaration Concerning the Role and Position of Pathophysiological Teaching/Learning in Biomedical Curricula. Link: https://ispweb.cc/about/beijing-declaration (datum pristupa: 29.03.2020.)*
9. *ISP (2009): International Symposium for Pathophysiology Teaching – Resolution Concerning the Trends and Practice in Pathophysiology Teaching/Learning. Link: https://ispweb.cc/about/shanghai-resolution (datum pristupa 29.03.2020.)*
10. *Elaborat o opravdanosti osnivanja studijskog programa veterinarske medicine, Novi Sad, 1999.*
11. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa integrisanih studija veterinarske medicine, 2019.*
12. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa doktorskih studija veterinarske medicine, 2019.*
13. *Elaborat za akreditaciju studijskog programa specijalističkih studija veterinarske medicine, 2019.*
14. *Kennedy D. Pisanje i upotreba ishoda učenja-praktični vodič. Savet Evrope, kancelaija u Beogradu, Srbija. 2007.*
15. *Vulfolk A., Hjuz M., Vojkap V. Psihologija u obrazovanju I-III. CLIO, Beograd. 2014.*
16. *Vizek Vidović V, Rijavec M, Vlahović-Štetić V, Miljković D. Psihologija obrazovanja. Klett, Beograd. 2014.*
17. *Jakšić Ž, Pokrajac N, Šmalcelj A, Vrcić-Keglević M. Umijeće medicinske nastave. Medicinska naklada, Zagreb, 2005.*
18. *Freire P. Pedagogija autonomije. CLIO, Beograd. 2017.*
19. *Grgin T. Školska dokimologija. Školska knjiga, Zagreb. 1986.*
20. *Price CP, Christensen RH. Ask the right question: a critical step for practicing evidence-based laboratory medicine. Ann Clini Biochem 2013; 50,4, 306-314.*
21. *Cincović MR, Starič J, Belić B, Ježek J, Klinička laboratorijska nastava u visokoškolskim veterinarskim ustanovama. Zbornik radova 28. Savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor 7-10. septembar, 2017;170-75.*
22. *Belić B, Cincović M, Lakić I. Unapređenje nastavnih metoda na predmetima iz oblasti patološke fiziologije na Departmanu za veterinarsku medicinu u Novom Sadu- predstavljanje projekta „PAFILAB". Zbornik radova i kratkih sadržaja 30. savetovanja veterinara Srbije. Zlatibor 12-15. septembar. 2019.*
23. *Nikčević-Milković A. Psihologija pisanja–određenje područja, motivacija, samoregulacija, poučavanje, metode istraživanja, esejsko ispitivanje. Napredak: časopis za pedagogijsku i teorijsku praksu, 2016; 157, 1–2: 125–145.*
24. *Visinko K. Čitanje, poučavanje i učenje, Zagreb: Školska knjiga.2014.*
25. *Cincović M.R., Belić B. Rangiranje univerziteta, naučno-istraživački i nastavni rad u polju Veterinarske medicine, Letopis naučnih radova 2018, 42: 58-69.*
26. *Pravilnik o radu laboratorije za patološku fiziologiju departmana za veterinarsku medicinu , aktuelna verzija u martu 2020.*
27. *Dubljanin S. Pitanje izbora nastavnih metoda. Pedagogija 2010; 4(10):713-716.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 636.09
Davidov et al., pp 43-48

PATOANATOMSKE PROMENE NA PLUĆIMA KOD PNEUMONIJE TELADI

PATNOANATOMICAL CHANGES OF LUNGS IN CALVES WITH PNEUMONIA

Ivana Davidov[a*], Miodrag Radinović[a], Mihajlo Erdeljan[a], Zorana Kovačević[a], Annamaria Galfi[a]

[a]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu*
[a]*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine*
**Autor za kontakt: ivana.davidov@polj.edu.rs 021/4853464*

SAŽETAK

Osnovni cilj istraživanja bio je da se uoče patoanatomske promene na plućima teladi koja su uginula usled posledica respiratornih oboljenja. Respiratorni sistem domaćih životinja omogućava fiziološki proces stalne razmene gasova između organizma i spoljašnje sredine. Istraživanje je sprovedeno u periodu od juna do oktobra 2018. godine, na farmi u Vojvodini, na kojoj se nalazilo 618 teladi Simentalske rase. Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja, na farmi je ukupno obolelo 89,1% teladi. Broj obolelih teladi sa respiratornim simptomima bio je 85,44%. Od 63 (10,19%) uginula teleta, nakon urađene obdukcije i pregleda respiratornih organa, uočene su različite patoanatomke promene. Utvrđeno je da je najzastupljeniji tip pneumonije bila purulentna pneumonija.

Ključne reči: patoanatomske promene, telad, pneumonija, respiratorni sistem.

ABSTRACT

The main goal of this study is to detect pathoanatomical changes in the lunges of calves that have died as a result of respiratory illness. The respiratory system of domestic animals includes a range of organs that allow physiological processes of constant gaseous exchange between the organism and the environment. The research was conducted from June to October 2018, at the farm in Vojvodina, where were 618 calves of the Simental breed. Based on the obtained results of the research, the total number of infected calves on the farm was 89.1%. The number of calves with respiratory symptoms was 85.44%. Of the 63 (10.19%) dead calves, after the autopsy and examination of the respiratory organs, different pathoanatomical changes were observed. It was found that the most frequent finding was purulent pneumonia.

Key words: pathoanatomical changes, calves, pneumonia, respiratory system.

UVOD

Respiratorni sistem domaćih životinja omogućava fiziološki proces stalne razmene gasova između organizma i spoljašnje sredine. Za vršenje fizioloških procesa tokom kojih se oslobađa energija koju životinje koriste, neophodan je kiseonik. Krv kao posrednik, omogućava prenošenje kiseonika

od pluća do tkiva, i ugljen-dioksida iz tkiva u pluća.

Prema podacima iz literature najznačajniji zdravstveni i ekonomski problem kod teladi u odgoju su respiratorne bolesti (1). U Francuskoj, skoro 80% zdravstvenih problema teladi se odnosi na bolesti organa za disanje i to pre svega virusne etiologije (2).

Posmatrajući etiologiju respiratornih bolesti, mora se napomenuti da je ona kompleksna. Pored faktora spoljne sredine i deficitarne ishrane koji deluju putem povećane predispozicije za nastanak infekcije, primarnu ulogu imaju virusni uzročnici, ali i neke bakterije koje deluju kao sekundarni patogeni (3).

U toku zapaljenja pluća, odvija se intenzivna saradnja između ćelija pluća (pneumociti tipa I i II, Klara ćelije, endotelne ćelije krvnih sudova i stromalne ćelije intersticijuma) i ćelija krvi (limfociti, mastociti, monociti i granulociti). Komunikaciju između plućnih i krvnih ćelija omogućavaju citokini (interleukini, monokini, hemokini), ali i inflamatorni medijatori iz plazme kao što su komponente komplementa (C3a, C3b, C5a), faktori koagulacije (faktor V i VII), metaboliti arahidonske kiseline (leukotrieni i prostaglandini), adhezivni molekuli, enzimi i inhibitori enzima (elastaze i antirtipsin), antioksidansi (glutation), zatim metaboliti kiseonika i azot oksid (4).

Potreba za uspostavljanjem univerzalne podele i nomenklature pneumonija životinja i dalje postoji s obzirom na to da ih veterinarski kliničari i patolozi posmatraju i dijagnostikuju na osnovu različitih dijagnostičkih procedura. Pneumonije se mogu klasifikovati prema različitim kriterijumima (5). Prema vrsti uzročnika koji ih izazivaju, pneumonije se dele na virusne, bakterijske, gljivične, verminozne, hipersenzitivne i pneumonije izazvane hemijskim materijama (6). Pneumonije goveda se dele na: enzootsku pneumoniju goveda, tuberkulozu pluća goveda, plućnu manhajmiozu (transportna groznica), alergijski alveolitis i verminoznu pneumoniju goveda (6,7). Prema distribuciji lezija koje se nalaze kod životinja, razlikuju se: fokalna, kranioventralna, difuzna, lobarna i lobularna pneumonija. Morfološki kriterijumi su najvažniji u patologiji i podrazumevaju podelu pneumonija na: eksudativne, intersticijalne, granulomatozne i embolične. U okviru ovih morfoloških manifestacija moguće su dalje podele prema tipu eksudata i distribuciji lezija (8).

Cilj ovog rada je bio da se uoče patoanatomske promene na plućima teladi i da se utvrdi u kojem procentu je koji tip pneumonije zastupljen.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u periodu od juna do oktobra 2018. godine na govedarskoj farmi u Vojvodini, gde se nalazi i gde je pregledano 618 teladi Simentalske rase.

Telad su na farmu stizala u odvojenim grupama, zavisno od mesta porekla. Novonabavljene jedinke su se uvodile u zapat nakon karantina. Prostorije u koje su smeštena telad su bile provetrene i čiste, sa dovoljno mesta za smeštaj životinja. Na gazdinstvu su zoohigijenski uslovi bili zadovoljavajući, a radnici su redovno sprovodili mere biosigurnosti i zoohigijenske mere.

Na gazdinstvu, telad su držana u boksevima na dubokoj prostirci. Sva telad su bila Simentalske rase. Sva telad, koja su se nalazili na farmi (n=618), pregledana su opštim kliničkim pregledom, kojim je utvrđeno zdravstveno stanje teladi i postojanje nekog oblika resporatornog oboljenja. Od ukupnog broja pregledane teladi na farmi (n=618), tokom perioda istraživanja, 528 jedinki je pokazivalo znake respiratornog oboljenja. Od ukupnog broja teladi kod kojih je dijagnostikovano respiratorno oboljenje (n=528) u toku istraživanja, uginulo je 60. Na leševima

uginule teladi je rađena obdukcija u cilju identifikacije patoanatomskih promena i otkrivanja uzroka uginuća. Obdukcija je rađena u objektu, koji je u sklopu farme, a koji je namenjen isključivo za izvođenje obdukcije. Svaka obdukcija (n=60) sastojala se iz spoljašnjeg (identifikacija leša, procena telesne građe i stanja uhranjenosti, postmortalne promene koje su vidljive spolja na lešu i spoljašnji pregleda leša u celini) i unutrašnjeg pregleda (otvaranje i pregled grudne i trbušne duplje, vađenje i pregled organa grudne i trbušne duplje) leša.

Dobijeni rezultati su obrađeni standardnim statističkim metodama, primenom programa Microsoft Office Excel 2007.

REZULTATI

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja izvršenih na farmi teladi može se ustanoviti da je od ukupnog broja pregledane teladi (n=618) obolelo 555 jedinki (89,81%). Broj oboljele teladi sa respiratornim simptomima iznosio je 528 (85,44%) teladi, Na farmi su uginula 63 teleta (10,19 %), od čega je 60 teladi uginulo zbog respiratornih oboljenja.

Na osnovu prikazanih rezultata istraživanja dobijenih obdukcijom leševa uočeno je da je purulentna pneumonija (slika 1) bila prisutna kod 34 teleta, fibrinozna pneumonija (slika 2) kod 21 teleta, dok je intersticijalna pneumonija (slika 3) uočena kod 5 teladi.

Nakon urađene obdukcije i pregleda respiratornih organa uginule teladi (n=60), uočeni su različiti tipovi pneumonija kao i procentualna zastupljenost promena na režnjevima pluća, koji su prikazani u tabeli 1.

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 1, uočava se različit stepen zastupljenosti promena na plućnim režnjevima.

Slika 1. Gnojna pneumonija

Slika 2. Fibrinozna bronhopneumonija sa hidroperikardom

Slika 3. Intersticijalna pneumonija goveda

Tabela 1. Prikaz zastupljenosti patoanatomskih promena na režnjevima pluća uginule teladi kod različitih tipova pneumonije

Tip pneumonije	Ukupan broj pluća/broj pluća sa promenom	Promene na plućima (%)			
Purulentna	60/34	56,67 %			
		Zastupljenost promena po režnjevima			
			kran.	med.	kaud.
			23,53%	64,7%	11,76%
Fibrinozna	60/21	35%			
		Zastupljenost promena po režnjevima			
			kran.	med.	kaud.
			57,13%	23,81%	19,06%
Interasticijalna	60/5	8,33%			
		Zastupljenost promena po režnjevima			
			kran.	med.	kaud.
			0	40%	60%

DISKUSIJA

Na osnovu rezultata dobijenih istraživanjem na farmi može se ustanoviti da je ukupan broj obolelih iznosio 555 (89,81%), od čega je obolelih teladi sa respiratornim simptomima na farmi bilo 528 (85,44%). Procenat uginuća na farmi iznosio je 10,19%, odnosno 63 teleta. Nakon urađenih obdukcija 60 leševa teladi i pregleda respiratornih organa utvrđeno je da je najviše zastupljena purulentna pneumonija koja je zabeležena kod 34 uginula teleta ili 56,67%, zatim sledi fibrinozna pneumonija koja je nađena kod 21 jedinke (35%), a najmanje je bila zastupljena intersticijalna pneumonija koja je uočena kod 5 leševa teladi ili kod 8,33% uginulih. Kranijalni i kardijalni režnjevi pluća su najviše bili zahvaćeni promenama kod purulentne pneumonije, dok su kaudalni režnjevi bili najzahvaćeniji kod intersticijalne pneumonije. Fibrinoznom pneumonijom su najviše zahvaćeni kranijalni režanj, zatim slede medijalni, a najmanja zastupljenost promena bila je na kaudalnim režnjevima.

Od faktora spoljne sredine za nastanak respiratornih bolesti na prvom mestu temperatura, vlaga, prašina i iritantni gasovi (9). Takođe, kao uzročnike, navode stres, strah i dugotrajan transport. Odgoj više teladi različitog uzrasta na malom prostoru, često i u jednom objektu, predstavlja idealan preduslov za nastanak i razvoj mnogih oboljenja virusne etiologije, što se takođe uočava u ovom istraživanju (10). Respiratorne infekcije goveda su jedan od glavnih uzroka gubitaka u intenzivnom govedarstvu, kako direktno zbog uginuća, tako i indirektno kroz smanjenog prirasta (11).

Najznačajniji zdravstveni i ekonosmki problem kod teladi u odgoju su upravo respiratorne bolesti (1). U Republici Srbiji (12) od respiratornih infekcija oboli oko 24 do 35% teladi, dok 11% obolelih ili ugine ili budu prinudno zaklana, pri čemu se mortalitet skoro poklapa sa rezultatima ovog istraživanja (10,19%), dok je broj oboljelih znatno manji nego što je to uočeno u radu (85,44%).

Kada su u pitanju oboljenja organa za disanje, sa kliničkog i ekonomskog aspekta, najznačajnija je enzootska bronhopneumonija i respiratorni sindromi (13). Pneumonije se mogu javiti kod teladi u uzrastu od desetak dana, kao i junadi uzrasta do godinu dana. Ekonomski gubici su ogromni jer morbiditet dostiže čak 100%, a mortalitet može da bude veći od 30%. U ovom istraživanju je utvrđen mortalitet od 10,19%. Takođe, ovi autori navode da loši ambijentalni uslovi smanjuju pritisak kiseonika u plućima, što uzrokuje hipoksiju i hipertenziju. Posledično, smanjuje se aktivnost cilija na sluznici dušnika i poremećena je fagocitna aktivnost makrofaga što doprinosi smanjenoj evakuaciji patogenih mikroorganizama iz pluća.

Nađeno je (12) da je od kod 61 teleta dijagnostikovano respiratorno oboljenje, a broj uginulih je bio 24 ili 39,34% što je znatno veći broj u odnosu na rezultate u ovom istraživanju. Drugi autori (5) navode da je kod teladi najzastupljeniji eksudativni tip pneumonije sa kranioventralnom konsolidacijom pluća što je potvrđeno u ovom istraživanju, gde je evidentna učestalost purulentne (56,67%) i fibrinozne pneumonije (35%). Takođe, ovi autori navode da su kod intersticajlne pneumonije patoanatomske promene prisutne na svim plućnim lobusima, što je potrvđeno i navedeno u ovom istraživanju.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može se zaključiti da su respiratorna oboljenja teladi vrlo aktuelna, a da je gnojna pneumonija dominantan tip pneumonija. Za pojavu pneumonija kod teladi, predisponirajući faktori su stres kome je životinja izložena prilikom transporta i neadekvatni higijenski uslovi u objektima u kojima su smeštena tovna junad, što omogućava patogeno delovanje infektivnih agenasa.

LITERATURA

1. *Šamanc H. Bolesti respiratornog i kardiovaskularnog sistema goveda. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2010.*
2. *Radinović M., Davidov I., Galfi A., Kovačević Z., Erdeljan M., Radivojević D. Respiratorni sindrom kod teladi u intezivnom uzgoju. Letopis naučnih radova 2015, 39: 97-101.*
3. *Bugarski D., Lazić S., Petrović T., Milanov D., Bojkovski J., Vujanac I. Infekcije disajnih puteva teladi. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2005, 5(3-4):107-164.*
4. *Tizard I. 2008. Veterinary Immunology. Elsevier Saunders, Philadephia.*
5. *Jovanović M., Kovačević S., Knežević M. Specijalna veterinarska patologija. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 2012.*
6. *Knežević M., Jovanović M. Opšta patologija. Makarije, Beograd, 1999.*
7. *Damjanović I., Jukić S. Specijalna patologija. Medicinska naklada, Zagreb, 2004.*
8. *Cheville N.F. Introduction to Veterinary Pathology. Wiley-Blackwell, Iowa, 2006.*
9. *Broom D.M. Needs and welfare of housed calves. In New Trends in veal calf production. Proceedings of the International Symposium on Veal Calf Production 1991, 52: 23-31.*
10. *Radinović M. Bolesti podmlatka preživara. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2017.*
11. *Radinović M., Dimitrijević B. Bolesti preživara. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2018.*
12. *Bojkovski J.A., Milanov D., Vasić A., Zdravković N. Resiratory diseases of calves on dairy cows farm. Bulletin UASVM Veterinary Medicine 2015, 71(2): 313-320.*
13. *Lazić S., Petrović T., Pušić I., Velhner M. Najčešća virusna oboljenja teladi u industrijskom odgoju. Vet. Glasnik 2004, 58(1-2): 67-76.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 569.723
Erdeljan et al., pp 49-54

HRONIČNA OBOLJENJA PLUĆA KONJA

CHRONIC LUNG DISEASE IN HORSES

Mihajlo Erdeljan[a*], Ivana Davidov[a], Miodrag Radinović[a], Zorana Kovačević[a], Tijana Kukurić[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
**kontakt: erdeljanm@polj.uns.ac.rs*

SAŽETAK

Infekcije i zapaljenje distalnih partija respiratornog trakta su česte kod konja. Iako se etiologija često može razlikovati klinička slika je često zajednička. Inflamacija niskog stepena malih disajnih puteva je prepoznata kao čest uzrok lošeg rada kod mladih i srednje starih sportskih konja. Patogeneza hroničnih oboljenja pluća nije jasno definisana. Mnoštvo etioloških faktora može biti uključeno i njihov relativni doprinos razvoju bolesti varira između različitih populacija konja, a ovi faktori uključuju ishranu, smeštaj i preventivnu veterinarsku praksu pre svega u vezi distribucije infektivnih agenasa ali ne treba isključiti ni genetski uticaj. Pouzdana dijagnoza hroničnih oboljenja pluća postavlja se na osnovu anamnestičkih podataka, kliničke slike, kliničkog pregleda, bronhoskopije i alergijskim testiranjem.

Ključne reči: hronične bolesti pluća, konji, inflamacija.

ABSTRACT

Infections and inflammation of the respiratory tract distal parts are common in the horse. Although the etiology can often be distinguished, the clinical picture is often common. Inflammation of low levels of small respiratory tract is recognized as a common cause of poor performance in young and middle-aged sports horses. The pathogenesis of chronic lung disease is not clearly defined. A variety of etiological factors may be involved and their relative contribution to disease development varies between different horse populations, and these factors include nutrition, housing and preventive veterinary practice, primarily regarding the distribution of infectious agents, but genetic effects should not be excluded. Reliable diagnosis of chronic lung disease is based on anamnestic data, clinical picture, clinical examination, bronchoscopy and allergic testing.

Key words: chronic lung disease, horses, inflammation.

UVOD

Infekcije i zapaljenje distalnih partija respiratornog trakta su česte kod konja. Smatra se da su bolesti distalnih partija pluća na drugom mestu po incidenci kod konja u treningu i to odmah posle oboljenja mišićno – skeletnog sistema. Tako čitav niz autora navodi incidencu veću od 50% (1-4).

Poslednjih godina pokušano je uspostavljanje jasne razlike između rekurentne opstrukcije disajnih puteva (eng.

heaves - *recurrent airway obstruction* - RAO) i inflamatorne bolesti disajnih puteva (eng. *inflammatory airway disease* - IAD) (5), sa manjim ili većim uspehom. Postojali su i pokušaji razvijanja standardizovanog, internacionalno priznatog i prihvaćenog sistema za ocenjivanje stepena kliničkih manifestacija (clinical scoring system) kod oboljenja donjih resporatornih puteva (6-8) ali bez uspeha, najviše iz razloga što ova oboljenja uglavnom protiču subklinički. Neki autori sugerišu da su hronična opstruktivna bolest pluća (eng. *chronic obstructive pulmonary disease* - COPD), hajvs ili rekurentna opstrukcija disajnih puteva (RAO), alergijska bolest disajnih puteva, inflamatorna bolest disajnih puteva (IAD), bolest malih disajnih puteva, reaktivna bolest disajnih puteva, bronhitis i bronhiolitis deo istog entiteta i da se ovi termini mogu koristiti kao više ili manje adekvatni za opisivanje ovih inflamatronih procesa (9). Dok drugi autori (10) u ovu grupu oboljenja ubrajaju i letnju ili polensku opstrukciju disajnih puteva (eng. *summer pasture – assosiated obstructive pulmonary disease* – SPAOD) kao poseban entitet.

Patogeneza hroničnih oboljenja pluća nije jasno definisana. Mnoštvo etioloških faktora može biti uključeno i njihov relativni doprinos razvoju bolesti varira između različitih populacija konja, a ovi faktori uključuju ishranu, smeštaj i distribuciju infektivnih agenasa ali ne treba isključiti ni genetski uticaj (11). Neinfektivni agensi imaju verovatno centralnu ulogu u razvoju oboljenja. Konji smešteni u štalama su potencijalno izloženi visokim koncentracijama aerosolizovanih čestica i gasova i to kumulativno tokom dužeg perioda. Nekoliko studija je identifikovalo uvođenje konja u štale sa pašnjaka kao faktor rizika za IAD (12), a visoke koncentracije prašine su uobičajene u okruženju konvencionalnih štala (11,13).

Inflamatorni odgovor je praćen povećanim nivoom histamina u bronhoalveolarnoj tečnosti, povećanim nivoima inflamatornih medijatora u plazmi - tromboksana i 15-hidroksiikozatetraenske kiseline u plazmi (15-HETE) i smanjenjem proizvodnje prostaglandina (PG) E2 od strane mukoze disajnih puteva. (9,14).

Iako se etiologija često može razlikovati klinička slika je često zajednička. Ona može biti ograničena na netolerantnost na trening, loše performanse ili konji mogu kašljati ili imati bilateralni nosni iscedak za vreme ili odmah posle vežbanja. Kako bolest napreduje klinički znaci mogu uključivati bilo koju kombinaciju groznice, anoreksije, depresije, bilateralnog nosnog iscedka, upornog kašlja, gubitka težine, tahipneju i respiratorni distres (4).

Pouzdana dijagnoza hroničnih oboljenja pluća postavlja se na osnovu anamnestičkih podataka, kliničke slike, kliničkog pregleda, bronhoskopije, aergijskih testiranja itd.

Cilj ovog istraživanja je da se utvrdi veza između upornog kašlja i hroničnog oboljenja pluća.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je vršeno na teritoriji AP Vojvodine, Republika Srbija. Geografska distribucija konja, koji su uključeni u istraživanje je prikazana na karti (slika 1). U ispitivanoj grupi se nalazio 41 konj. Grla su prethodno korišćena za različitu namenu (radne životinje, starija grla koja ne učestvuju u trkama i jedinke koje se koriste u rekreativne svrhe) različite starosti, rase, pola. Sa kliničkim simptomima bilo je 9 grla.

Svim konjima (n=41) je u okviru kliničkog pregleda izvađena krv punkcijom *v. jugularis* u epruvete od 1,3 ml sa dodatim antikoagulansom (EDTA), uz primenu principa asepse i antisepse. Odmah po uzorkovanju, epruvete su blago promućkane 6 puta zbog dejstva antikoagulansa. Uzorci su transportovani u laboratoriju u roku manjem od četiri sata. U laboratoriji su utvrđeni sledeći parametri kompletne krvne slike: hematokrit, hematoglobin, srednja koncentracija hemoglobina u eritrocitu, broj leukocita, broj granulocita, procenat granulocita, broj limfocita/monocita,

procenat limfocita/monocita i broj trombocita.

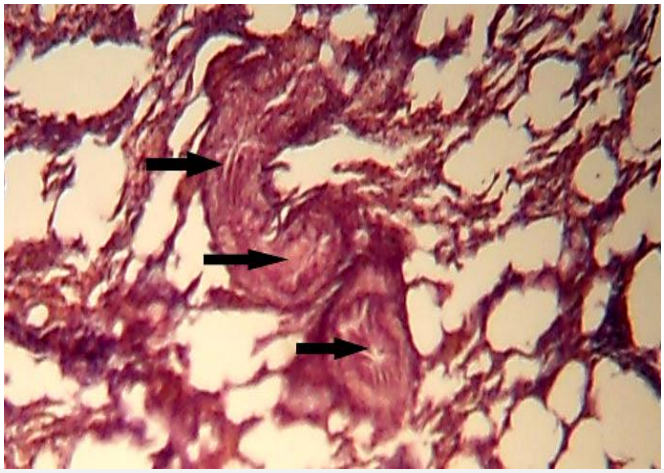
Od 41 konja, koji su bili uključeni u istraživanje, uzorci za patohistološka ispitivanja su uzeta samo od tri grla, koja su bila iz različitih etioloških razloga upućene na ekonomsko iskorišćavanje. Uzorci za patohistološka ispitivanja prikupljeni su *post mortem* i obuhvatili su deo pluća – kranijalni i kaudalni rubovi levog i desnog plućnog krila. Uzorci tkiva su fiksirani u 10% neutralnom formalinu i obrađeni rutinski, ukalupljeni u parafin, isečeni na 5µm i obojeni hematoksilin-eozinom. Svi patohistološki preparati analizirani pod svetlosnim mikroskopom na malom, srednjem i velikom uveličanju (10x, 40x i 100x).

REZULTATI

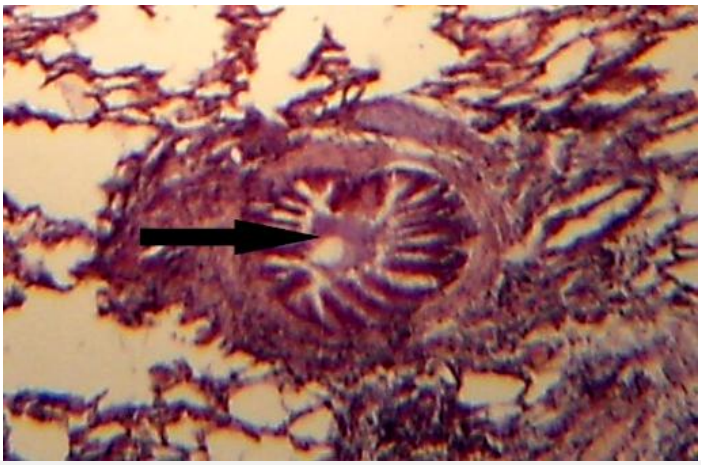
Kliničke simptome: uporan kašalj, mukopurulentan iscedak iz nosa, krepitacije i uvećani submandibularni limfnih čvorova, koji su ukazivali na hronična oboljenja pluća pokazalo je 9 grla (21,95%). Analizom krvne slike ovih 9 konja uočena je limfopenija, leukocitoza, granulocitoza i limfocitoza.

Od konja sa izraženom kliničkom slikom (n=9), tri su poslata na ekonomsko iskorišćavanje iz različitih etioloških razloga. Patohistološkim pregledom pluća tri konja, uočeno je suženje bronhiola čak do 90% (slika 2), peribrohnijalna proliferacija vezivnog tkiva, hiperplazija epitela bronhiola sa nakupinama seroznog sadržaja (slika 3 i 4) i intersticijum infiltriran sa eritrocitima i limfocitima srednje gustine (slika 5).

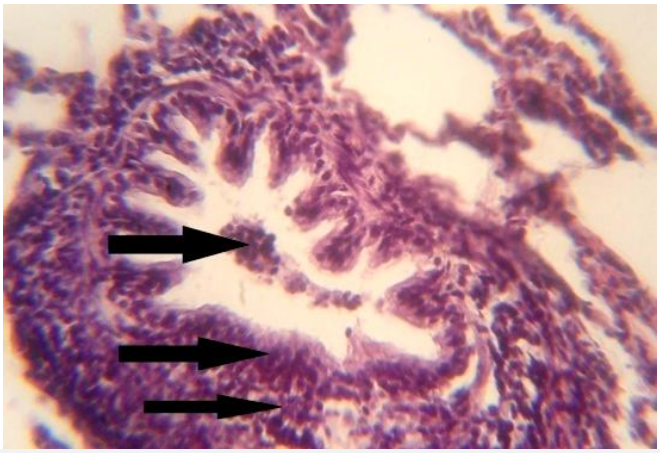
Slika 1. Geografska distribucija životinja koje su uključene u istraživanje



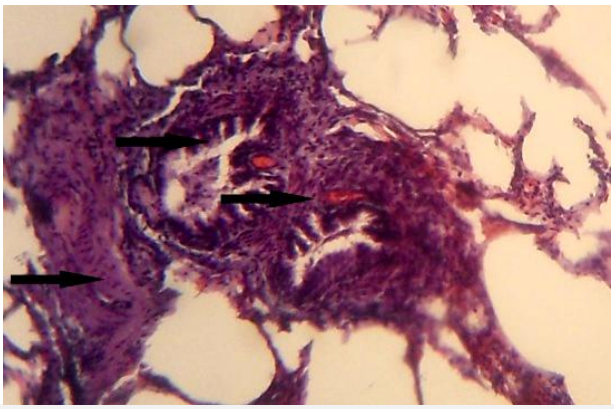
Slika 2. Parenhima pluća sa sužavanjem bronhija oko 90% (strelice) H&E, 40x



Slika 3. Hiperplazija epitela bronhijola sa nakupinama seroznog sadržaja u lumenu (strelica) H&E, 40x



Slika 4. Sadržaj opstruktivnog materijala – detritus ćelije, limfociti, neutrofilne ćelije i retki alveolarni makrofagi, zadebljanje epitela i peribronhijalna infiltracija. H&E, 100x



Slika 5. Fibroza peribronhijalnog prostora i intersticijum infiltriran sa eritrocitima i limfocitima srednje gustine. H&E, 40x

DISKUSIJA

Sumnja na hronična oboljenja pluća potiče iz anamneze, gde se vlasnik ili držaoc žali na lošije rezultate konja, da to grlo loše podnosi trening i da se javlja hroničan uporan kašalj sa pulmonarnom disfunkcijom bez simptoma inflamantornog oboljenja.

Promene u citološkom nalazu najčešće su povezane sa pulmonarnom disfunkcijom (15,16) a ona se ogleda klinički u vidu upornog kašlja. Međutim jedan deo konja ima promene u pulmonarnoj funkciji, ali uz odsustvo citološkog dokaza inflamacije (16). Drugi autori takođe navode odsustvo korelacije između citološkog nalaza, kliničkog nalaza hroničnog upornog kašlja i loših sportskih rezultata (17). Isti autori navode da ovakav nalaz može dovesti do pogrešne dijagnostike, pogotovu kod mladih punokrvnih trkačnih konja sa sugestivnim kliničkim znacima.

Patohistološki nalazi hroničnih oboljenja pluća konja uključuju kontaminirana pluća sa brojnim intraalveolarnim i nešto manje brojnim intrabronhiolarnim neutrofilima pomešanih sa makrofazima, fibrinom i akutnim hemoragijama (18). Studije sprovedene na klanicima su pokazale da postoji i do 37% konja sa patohistopatološkim nalazima inflamacije disajnih puteva (19,20). Takođe, prisustvo mukusa je dijagnostikovano u visokom nivou, skoro kod svih konja (94,12%) sa hroničnom opstruktivnom bolešću pluća (21,22,23). Ovakva stanja su dijagnostikovana i kod konja u ispitivanoj grupi u vidu bronhiolitisa, bronhiolarne epitelne hiperplazije i alveolarne epitelne hiperplazije sa bronhiolama ispunjenim mukoznim eksudatom. Na patohistološkom nalazu moglo se uočiti suženje bronhiola oko 90%, koje dovodi do opstruktivnih smetnji, hiperplazija epitela bronhiola sa nakupinama seroznog sadržaja u lumenu što dovodi do opstrukcije disajnih puteva i proliferacija vezivnog tkiva u peribronhijalnom prostoru, koja vrši pritisak na bronhiole i menja veličinu i izgled lumena bronhija uz stvaranje lokalne hiperemije.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih patohistoloških rezultata i kliničke slike, može se zaključiti da postoji direktna povezanost između upornog kašlja i promena u distalnim partijama respiratornog trakta kao posledica hroničnog oboljenja pluća.

LITERATURA

1. *Rossdale P.D., Hopes R., Wingfield D. Epidemiological study of wastage among racehorses 1982 and 1983. Vet. Rec., 116, 66–69, 1985.*
2. *Bracher V., von Fellenberg R., Winder C.N., Gruening G., Hermann M., Kraehenmann A. An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses. Equine Vet. J. 1991, 23(2): 136–141.*
3. *Dixon P.M., Railton D.I., McGorum B.C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnosis. Equine Vet. J. 1995, 27(6): 416–421.*
4. *Giguère S. Pneumonia in Adult Horses. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners - Focus Meeting, Focus on Upper and Lower Respiratory Diseases, Salt Lake City, UT, USA, 2010.*
5. *Mazan M.R. Inflammatory Airway Disease in the Horse. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners - Focus Meeting, Focus on Upper and Lower Respiratory Diseases, Salt Lake City, UT, USA, 2010.*
6. *Robinson N.E., Olszewski M.A., Boehler D., Berney C., Hakala J., Matson C., Derksen F.J. Relationship between clinical signs and lung function in horses with recurrent airway obstruction (heaves) during a bronchodilator trial. Equine Vet. J. 2000, 32(5):393–400.*
7. *Robinson N.E. International Workshop on Chronic Airway Disease, Michigan State University, U.S.A., Equine Vet. J. 2001, 33(1):5–19.*
8. *Couëtil L.L., Rosenthal F.S., DeNicola D.B., Chilcoat C.D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. Am. J. Vet. Res. 2001, 62(4):538–546*

9. *Robinson N.E. Equine COPD, Heaves, RAO, IAD: Understanding the phenotypes of equine airway disease. Proceeding of the SEVC Southern European Veterinary Conference Oct. 17-19, Barcelona, Spain, 2008.*
10. *Trailović D.R. Bolesti kopitara, Naučna KMD, Beograd, 2011.*
11. *Laurent L., Hoffman A.M., Hodgson J., Buechner-Maxwell V.A., Viel L., Wood J.L.N., Lavoie J.P. Inflammatory Airway Disease of Horses. J Vet Intern Med. 2007, 21:356-367.*
12. *Clarke A. A review of environmental and host factors in relation to equine respiratory disease. Equine Vet J. 1987, 19:435-441.*
13. *McGorum B.S., Ellison J., Cullen R.T. Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management system. Equine Vet J. 1998, 30: 430-434.*
14. *Robinson N.E., Derksen F.J., Olszewski M.A., Buechner-Maxwell V.A. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. British Veterinary Journal 1996, 152(3): 283-306.*
15. *Hare J.E., Viel L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses. J. Vet. Intern. Med. 1998, 12: 163-170.*
16. *Hoffman A.M., Mazan M.R. Programme of lung function testing horses suspected with small airway disease. Equine Vet. Educ. 1999, 11: 322-328.*
17. *Couëtil, L.L., Hoffman, A.M., Hodgson, J., Buechner-Maxwell, V., Viel, L., Wood, J.L.N. and Lavoie, J.P. Inflammatory airway disease of horses. J. Vet. Intern. Med. 2007, 21: 356-361.*
18. *Wichtel M., Gomez D., Burton S., Wichtel J., Hoffman A. Relationships between equine airway reactivity measured by flow metric plethysmography and specific indicators of airway inflammation in horses with suspected inflammatory airway disease. Equine Veterinary Journal 2016, 48: 466–471.*
19. *DebRoy C., Roberts, E., Jayarao B.M., and Brooks J.W. Bronchopneumonia associated with extraintestinal pathogenic Escherichia coli in a horse. J Vet Diagn Invest. 2008, 20: 661–664.*
20. *Derksen F., Brown C., and Sonea B. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses. Equine Vet J. 1989, 21: 23-26.*
21. *Winder N.C., Grunig G., Hermann M. Comparison of bronchoalveolar lavage and respiratory secretion cytology in horses with histologically diagnosed pulmonary disease. Schweiz Arch Tierheilkd. 1991, 133:123-130.*
22. *Erdeljan M., Davidov I., Kovačević Z., Ćutuk R. Histopatološki nalaz kod inflamatornog oboljenja vazdušnih puteva (IAD) konja. Savetovanje veterinara Srbije. Zlatibor, 2015.*
23. *Bullone M., Lavoie J.-P. Recurrent Airway Obstruction and Summer Pasture-Associated Obstructive Pulmonary Disease. Equine Clinical Immunology 2016, 127-144.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 591.469 :637.1
Galfi et al., pp 55-60

ULTRASONOGRAFIJA VIMENA VISOKOMLEČNIH KRAVA

UDDER ULTRASONOGRAPHY IN DAIRY COWS

Annamaria Galfi[a*], Ivana Davidov[a], Miodrag Radinović[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
**kontakt: annamaria.galfi@polj.uns.ac.rs*

SAŽETAK

Tokom perioda laktacije i involucije vimena krava, neophodno je sprovoditi redovne preglede vimena radi utvrđivanja prisustva poremećaja zdravstvenog statusa. U cilju otkrivanja promena u parenhimu vimena primena ultrasonografije omogućava vizualizaciju strukturnih promena vimena nastalih kao posledica upalnih procesa i tako olakšava dijagnostiku oboljenja. Ogled je sproveden na dve farme visokomlečnih krava holštajn frizijske rase. Na obe farme visokomlečnih krava urađen je klinički pregled životinja, Kalifornija mastitis test (CMT) i ultrasonografija vimena. Dobijeni rezultati ukazuju da ultrasonografija ima primenu u identifikaciji krava sa promenama u parenhimu vimena, jer omogućava vizualizaciju strukturnih promena vimena nastalih kao posledica upalnih procesa.

Ključne reči: ultrasonografija, vime, viskomlečne krave.

ABSTRACT

During the period of lactation and involution of the cow udder it is necessary to conduct regular udder examinations to determine the presence of disorders of health status. In order to detect changes in the udder parenchyma, the use of ultrasonography enables visualization of structural changes in the udder resulting from inflammatory processes and thus facilitates the diagnosis of the disease. The experiment was conducted on two farms of dairy cows of the Holstein Friesian breed. An animal clinical examination, California mastitis test (CMT) and udder ultrasonography were performed on both dairy farms. The obtained results indicate that ultrasonography is of use in the identification of cows with changes in the udder parenchyma, since it enables visualization of structural changes in udder resulting from inflammatory processes.

Key words: ultrasonography, udder, dairy cows.

UVOD

Mastitis predstavlja jednu od najznačajnijih bolesti visokomlečnih krava, koja nanosi velike ekonomske gubitke, pri čemu utiče na kvalitet i higijensku ispravnost mleka, kao i na dobrobit životinja. Najčešći uzrok nastanka zapaljenja vimena je prodor patogenih mikroorganizama, pri čemu se bolest karakteriše patološkim promenama u tkivu vimena, koje dovode do fizičkih i hemijskih promena u sastavu mleka. Stepen oštećenja tkiva vimena zavisi prvenstveno od patogenosti uzročnika, kao i od

inflamatornog odgovora vimena (1). Involucija vimena predstavlja kritičan period za nastanak novih intramamarnih infekcija (2).

Rana dijagnoza zapaljenja vimena je od presudnog značaja za smanjenje ekonomskih gubitaka i uspešnu kontrolu mastitisa. Klinički pregled krava i vimena omogućava laku dijagnozu kliničke forme mastitisa zahvaljujući izraženim znacima bolesti, kao što su crvenilo i otok vimena, bolnost pri palpaciji i prisustvo grudvica i gnoja u mleku, ali nailazi na poteškoće u otkrivanju subkliničke forme bolesti. Subklinički mastitis se definiše kao zapaljenje vimena bez vidljivih znakova inflamacije, koji dovodi do povećanja broja somatskih ćelija mleka i do pada proizvodnje mleka za 15-45% (3). Stoga su za otkrivanje subkliničke forme mastitisa razvijene dijagnostičke metode, koje su zasnovane na određivanju broja somatskih ćelija u mleku. Pored direktnih metoda, postoje i indirektne metode, kao što su Kalifornija mastitis test i Draminski mastitis detektor, na osnovu čijih rezultata se procenjuje broj somatskih ćelija u mleku. Tokom poslednjih godina, ultrasonografija je našla široku primenu u dijagnostici subkliničkog mastitisa. Istraživanja su pokazala da ultrasonografija pruža značajne informacije o zdravstvenom statusu vimena i omogućava procenu uspešnosti primenjene terapije, ali ne može zameniti dijagnostičke metode, kao što su mikrobiološka analiza i određivanje broja somatskih ćelija (4,5).

Odbrana vimena od patogenih uzročnika mastitisa, zasniva se na postojanju zaštitnih mehanizama odbrane u koje spadaju, u prvom redu, anatomska odbrana, celularna odbrana i određeni rastvorljivi faktori. Tokom ranog perioda zapaljenja vimena, primarnu ulogu imaju leukociti, odnosno somatske ćelije mleka, kao predstavnici celularne odbrane. U akutnoj fazi infekcije vimena, neutrofilni granulociti su predominantne ćelije u tkivu i sekretu vimena i predstavljaju više od 90% od ukupnih leukocita vimena, dok su makrofagi najzastupljeniji u mleku zdravog vimena (6).

Imajući u vidu poteškoće u identifikaciji krava sa subkliničkim mastitisom i poremećenom sekrecijom vimena, kao i terapiji mastitisa, cilj istraživanja je vizualizacija strukturnih promena vimena nastalih kao posledica upalnih procesa.

MATERIJAL I METODE

Ogled je sproveden na dve farme visokomlečnih krava holštajn frizijske rase na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine Republike Srbije. Na jednoj farmi krave su držane vezanim sistemom (grupa I), dok je na drugoj farmi bio slobodan tip držanja životinja (grupa II). Na obe farme visokomlečnih krava urađen je klinički pregled životinja, Kalifornija mastitis test (CMT) i ultrasonografija vimena.

Kliničkim pregledom izvršena je procena opšteg zdravstvenog stanja krava, kao i ispitivanje vimena adspekcijom i palpacijom. Adspekcijom je procenjen površinski izgled, veličina i simetrija vimena, pri čemu je posebna pažnja posvećena na eventualne povrede sisa i vimena. Palpacija vimena krava vršena je odmah posle muže, pri čemu je procenjena temperiranost, bolnost i konzistencija parenhima vimena. Kod sumnje na postojanje intramamarne infekcije, pored opšteg kliničkog pregleda krava i pregleda vimena, vršen je pregled supramamarnih limfnih čvorova i mleka Kalifornija mastitis testom.

Na osnovu rezultata CMT testa, indirektno se procenjivao broj somatskih ćelija mleka koje predstavljaju indikator zdravstvenog stanja vimena i kvaliteta mleka. Test je zasnovan na dejstvu površinski aktivne materije na DNK polimer iz leukocita, pri čemu se odvaja DNK, a proteinski deo spontano prelazi u gel. Interpretacija rezultata CMT testa je prikazana u tabeli 1.

Kravama je urađena ultrasonografija vimena kako bi se dijagnostikovala poremećena sekrecija vimena, odnosno subklinička forma mastitisa. Pri pregledu koristio se ultrasonografski aparat *Esaote pie medical - falco* (*Holandija*) i linearna sonda

od 6-8 MHz. Ultrasonografija vimena krava urađena je nakon kliničkog pregleda. Pre ultrasonografskog pregleda, vime krava se očištilo i opralo od nečistoća, i po potrebi ošišala dlaka. Potom se aplikovao gel za ultrasonografski pregled na ultrasonografsku sondu i kožu vimena kako bi se osigurao dobar kontakt između sonde i kože. Ultrasonografski pregled parenhima vimena se izvodio metodom direktnog kontakta (transkutana ehografija) sa linearnom sondom frekvencije 6-8 MHz. Tokom ultrasonografskog pregleda, sonda se postavljala u proksimalno distalni i kraniokaudalni položaj i pomerala u svim pravcima po površini kože vimena kako bi se izvršila vizualizacija celog parenhima vimena (7).

REZULTATI

Iz grupe I je ukupno pregledano 50 visokomlečnih krava, pri čemu su promene na vimenu krava uočene kod devet životinja. Životinje sa izraženim znacima kliničkog mastitisa nisu uključene u istraživanje, tako da ukupan broj životinja koje su ušle u eksperiment je 41.

Od krava II grupe ukupno je pregledano 20 visokomlečnih krava, pri čemu su promene na vimenu krava uočene kod šest životinja. Životinje sa izraženim znacima kliničkog mastitisa nisu uključene u istraživanje, tako da ukupan broj krava koje su ušle u eksperiment je 14.

Na obe farme krava, Kalifornija mastitis testom (CMT), ukupno je pregledano 55 uzoraka mleka u cilju identifikacije poremećene sekrecije vimena. Poremećena sekrecija vimena identifikovana je u 32 (58,18%) vimena krava, dok je negativan nalaz zabeležen kod 23 (41,82%) vimena (tabela 2).

Ultrasonografskim pregledom 32 vimena krava, koje su bile CMT pozitivne, uočen je patološki promenjen parenhim vimena, koji se karakteriše prikazom nehomogene strukture sa izraženim hipoehogenim i hiperehogenim poljima, pri čemu se uočavaju veće hiperehogene fibrozne trake (slika 1).

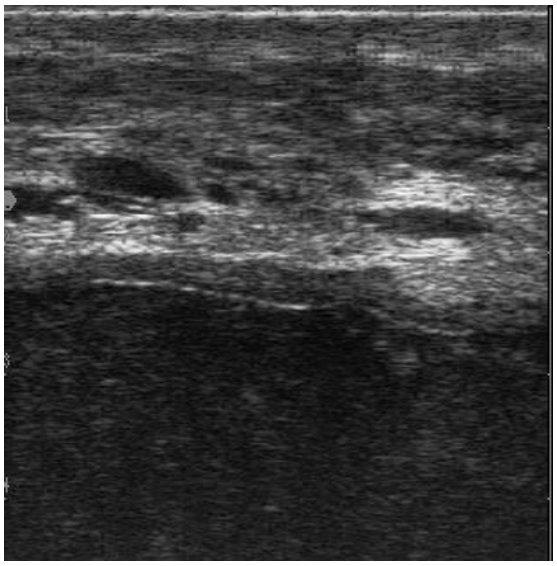
Kod 23 krave ultrasonografskim pregledom je uočen nalaz fiziološkog parenhima. Parenhim vimena se uočava kao homogena struktura, ujednačene ehogenosti sa anehogenim poljima, koji odgovaraju krvnim sudovima i kanalikularnom sistemu vimena (slika 2).

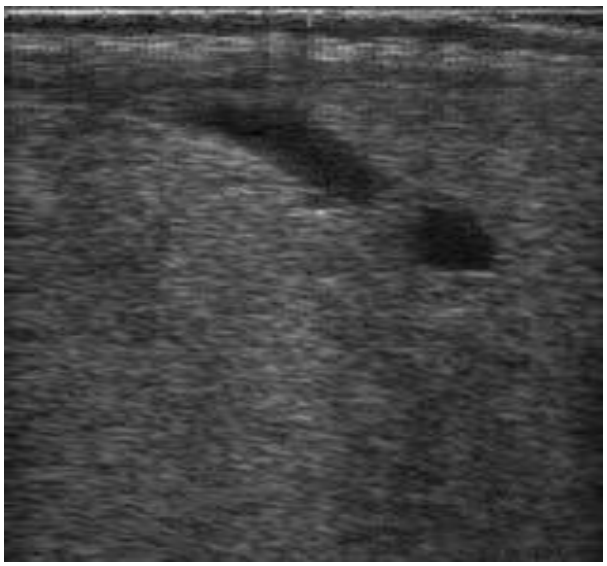
Tabela 1. Interpretacija rezultata CMT testa

Reakcija	Promena konzistencije mleka	Broj somatskih ćelija / mL
Negativna (- ili N)	Bez promena u konzistenciji, mešavina ostaje tečna i homogena	0 - 200 000
U tragovima (T)	Neznatna promena u konzistenciji pri pomeranju posude	200 000 - 400 000
Slabo pozitivna (+)	Pojačano zgrušavanje bez pojave gela	400 000 - 1 200 000
Pozitivna (++)	Stvaranje gela koji se skuplja na sredini posude tokom mešanja, ali se razilazi prestankom mešanja	1 200 000 - 5 000 000
Jako pozitivna (+++)	Stvaranje guste želatinozne mase koja se skuplja na sredini posude pri mešanju i ne razilazi se po prestanku mešanja	>5 000 000

Tabela 2. Rezultati Kalifornija mastitis testa (CMT) u obe grupe visokomlečnih krava

	Broj uzorka	Kalifornija mastitis test	
		Negativna reakcija	Pozitivna reakcija
	15	13	2
	5	2	3
	3	-	3
	19	6	13
	13	2	11
Ukupno	55	23	32





Slika 1. Ultrasonografski prikaz patološki promenjenog parenhima vimena krava (levo)
Slika 2. Ultrasonografski prikaz fiziološkog parenhima vimena krava (desno)

DISKUSIJA

U cilju kontrole zdravlja vimena krava, neophodno je tokom perioda laktacije i involucije sprovoditi kliničke preglede vimena radi otkrivanja poremećaja funkcije. Praćenje zdravstvenog stanja visokomlečnih krava je neophodno kako bi se dobilo kvalitetno i higijenski ispravno mleko (8). Procenjuje se da svega 2-3% krava boluje od kliničkog mastitisa, iako je najmanje 40% svih krava inficirano nekim od uzročnika mastitisa (9). Na početku eksperimenta, kliničkim pregledom ispitano je zdravstveno stanje 50 krava (grupa I) i 20 krava (grupa II). Klinički mastitis je uočen kod 18% krava iz grupe I i kod 30% krava iz grupe II, pri čemu su one isključene iz eksperimenta. Ovi nalazi su nešto veći u odnosu na rezultate autora (10), koji su detektovali klinički mastitis kod 11% ispitivanih grla, dok je prevalenca kliničkog mastitisa iznosila 26,5% u istraživanjima (11) i 23% u istraživanjima (12).

Kalifornija mastitis test je prvi put opisan i korišćen 1957. godine (13) i od tada je prihvaćen kao brza, jednostavna i pouzdana metoda u identifikaciji krava sa poremećenom sekrecijom vimena i subkliničkim mastitisom. Na osnovu rezultata CMT testa, može se indirektno proceniti broj somatskih ćelija u pojedinačnim uzorcima mleka, kao i u zbirnim uzorcima.

Kod krava ogledne grupe u okviru ovog istraživanja, za otkrivanje poremećene

sekrecije vimena primenio se Kalifornija mastitis test. Poremećena sekrecija vimena krava identifikovana je u 58,18% (32/55) vimena krava. Ovi nalazi odgovaraju rezultatima istraživanja autora (14), koji su u 56,1% (128/228) uzoraka mleka uočili pozitivnu reakciju Kalifornija mastitis testa, dok su drugi autori (15) utvrdili veći procenat CMT pozitivnih vimena (67,76%).

Ultrasonografija vimena krava, u odnosu na druge metode, kao što su klinički pregled, radiografija i endoskopija, omogućava otkrivanje svih intramamarnih patoloških promena koje mogu predstavljati predispoziciju za nastanak mastitisa (7,16).
Na slici 2 je prikazan fiziološki parenhim vimena, pri čemu se on primećuje kao homogena i ehogena struktura sa anehogenim područjima koja odgovaraju krvnim sudovima i kanalikularnom sistemu parenhima vimena. Karakterističan ultrasonografski izgled parenhima vimena rezultat je prisustva vezivnog tkiva koji poseduje veću ehogenu gustinu i žlezdanog parenhima koji ima manju ehogenu gustinu (4).

Ultrasonografski nalaz vimena krava sa kliničkim i subkliničkim oblikom mastitisa zavisi od stepena strukturnih promena koje se pojavljuju u tkivu. Zapaljenski procesi u vimenu dovode do promene ehogenosti organa. Parenhim vimena se najčešće uočava kao nehomogena struktura, pri čemu ehogenost može biti smanjena ili povećana (slika 1). Autori (17) su uočili nehomogenu hipoehogenu strukturu parenhima vimena kod krava sa akutnim mastitisom, dok su povećanje ehogenosti zapazili kod hroničnog mastitisa kao rezultat bujanja fibroznog tkiva. Autori (4) su isto identifikovali krave sa nehomogenim parenhimom smanjene ehogenosti, ali životinje nisu pokazivale znake akutnog mastitisa. Ovi autori navode da nisu uočili korelaciju između trajanja bolesti i stepena sonografskih promena. Istraživanja autora (18) su ukazala da se kod krava sa subkliničkim i kliničkim oblikom mastitisa može uočiti povećanje ehogenosti parenhima vimena, pri čemu on postaje nehomogen.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da ultrasonografija ima primenu u identifikaciji krava sa subkliničkim mastitisom i poremećenom sekrecijom vimena, jer omogućava vizualizacija strukturnih promena vimena nastalih kao posledica upalnih procesa.

LITERATURA

1. *Sharif A., Muhammad G. Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production. A review. Pakistan Veterinary Journal 2008, 28(4): 194-200.*
2. *Gaunt S.N., Raffio N., Kingsbury E.T., Damon Jr R.A., Johnson W.H., Mitchell B.A. Variation of lactoferrin and mastitis and their heritabilities. Journal of Dairy Science, 1980, 63(11): 1874-1880.*
3. *Swinkels J.M., Hogeveen H., Zadoks R.N. A partial budget model to estimate economic benefits of lactational treatment of subclinical Staphylococcus aureus mastitis. Journal of Dairy Science 2005, 88(12): 4273-4287.*
4. *Flöck M., Winter P. Diagnostic ultrasonography in cattle with disease of the mammary gland. The Veterinary Journal 2006, 171: 314-321.*
5. *Hussein H.A., El-Khabaz K.A.S., Malek S.S. Is udder ultrasonography a diagnostic tool for subclinical mastitis in sheep? Small Ruminant Research 2015, 139: 121-128.*
6. *Pyörälä S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. Veterinary Research 2003, 34(5): 565-578.*
7. *Fasulkov I.R. Ultrasonography of the mammary gland in ruminants: a review. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine 2012, 15(1): 1-12.*
8. *Boboš S., Pajić M., Radinović M., Mihajlović Ukropina M., Rašić Z., Galfi A. Primena mera kontrole poremećaja sekrecije vimena i suzbijanje mastitisa krava. Zbornik radova 23. Savetovanje veterinara Srbije, Zlatibor 13-16. September, 2012, pp 115-20,*

9. *Stojanović L., Petrović M., Katić V. Značaj mastitisa u proizvodnji mleka. Simpozijum mastitis i kvalitet mleka. Srpsko veterinarsko društvo. Vrnjačka Banja, 30. maj-2. Jun, 2012, pp 1-8.*
10. *Tolosa T., Verbeke J., Ayana Z., Piepers S., Supré K., De Vliegher S. Pathogen group specific risk factors for clinical mastitis, intramammary infection and blind quarters at the herd, cow and quarter level in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia. Preventive Veterinary Medicine 2015, 120(3-4): 306-312.*
11. *Lakew M., Tolosa T., Tigre W. Prevalence and major bacterial causes of bovine mastitis in Asella, South Eastern Ethiopia. Tropical Animal Health and Production 2009, 41(7): 1525-1530.*
12. *Olde Riekerink R.G.M., Barkema H.W., Kelton D.F., Scholl D.T. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. Journal of Dairy Science 2008, 91(4): 1366-1377.*
13. *Schalm O.W., Noorlander D.O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. Journal of the American Veterinary Medical Association 1957, 130(5):199-204.*
14. *Varatanović N., Podžo M., Mutevelić T., Podžo K., Čengić B., Hodžić A., Hodžić E. Use of Californija mastitis test, somatic cells count and bacteriological findings in diagnostics of subclinical mastitis. Biotechnology of Animal Husbandry 2010, 26(1-2): 65-74.*
15. *Sharma N., Pandey V., Sudan N. A. Comparison of some indirect screening tests for detection of subclinical mastitis in dairy cows. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine 2010, 13(2): 98-103.*
16. *Szencziova I., Strapak P. Ultrasonography of the udder and teat in cattle: perspective measuring technique. Slovak Journal of Animal Science 2012, 45(3):96-104.*
17. *Trostle S., O'Brien R. Ultrasonography of the bovine mammary gland. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 1998, 20:64-71.*
18. *Galfi A., Radinović M., Pajić M., Boboš S., Vidić B., Savić S., Milanov D. Immunoglobulin G concentration and ultrasonography of the cows udder with subclinical mastitis. International Symposium of Veterinary Medicine "One Health - New Challenges" (ISVM2015)., Vrdnik 21-23. May, 2015, pp 489-492.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 636.09 :615.2
Kovačević et al., pp 61-67

ZNAČAJ PALATABILNOSTI MAGISTRALNIH VETERINARSKI LEKOVA

THE IMPORTANCE OF PALATABILITY OF COMPOUNDED VETERINARY DRUGS

Zorana Kovačević[a*], Dragica Stojanović[a], Ivana Davidov[a], Mihajlo Erdeljan[a], Miodrag Radinović[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
**kontakt: zorana.kovacevic@polj.edu.rs*

SAŽETAK

Rastući broj kućnih ljubimaca i sve veća zaintersovanosti vlasnika životinja dovela je do toga da su na tržištu veterinarskih lekova sve više zastupljeni lekoviti preparati za oralnu primenu koje je lako primeniti kod životinja. U takve farmaceutske oblike spadaju i polučvrsti preparati (gelovi i paste) za oralnu upotrebu. Iako se duži niz godina koriste u veterinarskoj praksi, ova grupa preparata je tek u skorije vreme uvrštena u Evropsku farmakopeju. Relativno mali broj registrovanih veterinarskih lekova u ovoj farmaceutskoj formulaciji je doveo do povećanja obima proizvodnje magistralnih veterinarskih oralnih pasti i gelova. Pored individualnog pristupa lečenju životinje i korigovanju doze primena ovih lekova omogućava korigovanje mirisa i ukusa. Cilj ovog rada je bio razvoj formulacije i farmaceutsko-tehnološka karakterizacija oralnih gelova sa meloksikamom za mačke izrađenih primenom različitih sredstava za geliranje (karbomer, ksantan guma, karmeloza-natrijum, hipromeloza), uz dodatak sredstva za korekciju ukusa. Farmaceutsko-tehnološka karakterizacija izrađenih oralnih gelova je obuhvatala organoleptičko ispitivanje. Utvrđeno je da se izabrani polimeri mogu koristiti kao sredstva za geliranje u formulaciji oralnih gelova sa meloksikamom za mačke.

Ključne reči: palatabilnost, magistralni lek, oralni gel.

ABSTRACT

The growing number of pets and growing interest of pet owners has led to the increased use of veterinary medicinal products for oral application which are easy for administration. Such pharmaceutical forms include semi-solid preparations (gels and pastes) for oral use. Although they have been used in veterinary practice for a number of years, they have been included in the European Pharmacopoeia recently. The relatively small number of registered veterinary medicinal products in this pharmaceutical formulation has led to an increase in the volume of production of compounded veterinary oral paste and gels. In line with an individual approach in treating animals and adjusting the dose, the administration of these drugs allows correction of odors and tastes. The aim of this work was the formulation development and pharmaco-technological characterization of meloxicam oral gels for cats, prepared using different gelling agents (carbomer, xanthan gum, carmelose-sodium, hypromellose), with addition of flavoring agent. The pharmaco-technological characterization of the prepared

oral gels included organoleptic examination. It is established that the selected polymers could be used as gelling agents in the formulation of oral gels with meloxicam for cats.

Key words: palatability, compounded drug, oral gel.

UVOD

Danas su, zbog sve veće zaintersovanosti vlasnika životinja, na tržištu veterinarskih lekova sve zastupljeniji magistralni lekoviti preparati, kako zbog mogućnosti korigovanja doze spram individualnih potreba određene životinjske vrste, tako i zbog mogućnosti uticaja na palatabilnost izrađenog farmaceutskog oblika. Važnost pravilne upotrebe veterinarskih lekova i adekvatno lečenje kućnih ljubimaca su važni kako se ispoštovao koncept „Jednog zdravlja“, zdravlje i dobrobit životinja i ljudi (1).

Izrada magistralnih lekova predstavlja veoma važan segment farmaceutske zdravstvene zaštite. Magistralni lek je lek izrađen u apoteci po receptu za određenog pacijenta/korisnika, odnosno može da se definiše i kao preparat izrađen iz lekovitih (aktivnih) i pomoćnih supstanci proverenog, propisanog kvaliteta za određenog korisnika, prema pojedinačnom receptu (2). Definicija magistralnog leka, kao i zakoni/propisi, kojima oni podležu, odnose se kako na humane, tako i na veterinarske magistralne lekove. Razvoj farmaceutske industrije omogućio je serijsku proizvodnju lekova u skladu sa strogim zahtevima regulatornih tela, čime je u 20. veku značajno smanjena izrada magistralnih lekova u apotekama. Međutim, kako registrovani lekovi često ne zadovoljavaju potrebe pojedinačnih bolesnika, značaj magistralne izrade lekova je posledenjih godina opet porastao. Naime, poslednjih godina u veterinarskoj farmakoterapiji kao trend se izdvojila individualizacija terapije tj. prilagođavanje terapije pojedinačnim potrebama pacijenta (3,4). Među mnogobrojnim razlozima koji utiču na povećanje obima izrade magistralnih lekova izdvajaju se prilagođavanje terapije/doze individualnim potrebama pacijenta odnosno životinje (inter i intraspecijske razlike kod životinja), kao i korekcija ukusa i mirisa kada životinja usled neodgovarajućeg ukusa odbija lek (5,6).

Prihvatljivost leka od strane životinje predstavlja jedan od najvećih izazova u razvoju formulacije veterinarskog leka za oralnu primenu. Zbog toga se korekciji ukusa i postizanju adekvatne palatabilnosti posvećuje posebna pažnja. Svojstvo palatibilnosti lekova je zbog svoje značajnosti prepoznato od strane Evropske agencije za lekove koja je 2014. godine usvojila Smernice za ispitivanje palatibilnosti veterinarskih lekova (7). Prema ovoj Smernici svojstvo palatibilnosti podrazumeva da je lek prihvatljiv za oralnu primenu, odnosno da je "prijatnog ukusa" ili "prihvatljivog ukusa". Kada se primenjuje na veterinarski lek, ovaj izraz ukazuje na to da je lek dovoljno prijatan da bi se obezbedilo dobrovoljno uzimanje. Hullár i sar. navode da se palatabilnost kao pojam odnosi na prihvatljivost preparata za oralnu primenu i predstavlja kombinaciju prihvatljivog ukusa, mirisa, teksture i temperature (8). U veterinarskoj medicini se često upotrebljavaju lekovi namenjeni za upotrebu kod ljudi ili je u pitanju upotreba lekova koji su registrovani za druge životinjske vrste što je prema Zakonom o lekovima i medicinskim sredstvima Srbije regulisano tvz. kaskadnom reakcijom (2). Primena lekova u veterinarskoj farmakoterapiji na ovaj način može dovesti do smanjenja komplijanse i smanjenja efikasnosti terapije. Iako na globalnom tržišu lekova postoji izražen interes za farmaceutske preparate za životinje, lekovi namenjeni za peroralnu primenu kod mačaka još uvek nemaju dovoljno razvijenu palatabilnost i nisu takvi da će ih ove životinje dobrovoljno prihvatati. Samim tim, očekuje se da će se u budućnosti proizvođači veterinarskih lekova usmeriti na razvoj palatabilnih lekova, pre svega za

mačke (9). Jedno od potencijalnih rešenja je razvoj pasti i gelova namenjenih za oralnu primenu u veterini. Iako su duži niz godina korišćeni u veterinarskoj praksi, ovi preparati su tek nedavno uvršteni u Evropsku farmakopeju (10).

Cilj ovog rada bio je razvoj formulacije i farmaceutsko-tehnološka karakterizacija oralnih gelova sa meloksikamom za mačke, izrađenih sa različitim sredstvima za geliranje (karbomer, ksantan guma, karmeloza-natrijum i hipromeloza).

MATERIJAL I METODE

U radu su korišćene sledeće supstance i reagensi: karbomer (Carbopol® 974P, BF Goodrich, SAD); ksantan guma (Jungbunzlauer, Austrija); karmeloza-natrijum (Fluka AG, Švajcarska); hipromeloza (Metolose 60SH, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Japan); trietanolamin (Centrohem, Srbija); natrijum-benzoat (Centrohem, Srbija); propilenglikol (Centrohem, Srbija); pojačivač ukusa Aroma fish (Avitasa, Španija); Movalis® tablete 15 mg (Boehringer Ingelheim Ellas A.E., Grčka). Nakon prelimiranih istraživanja, odabrana su sledeća sredstva za geliranje, kao i njihove koncentracije: uzorak F1 – sredstvo za geliranje karbomer (Carbopol® 974P), u koncentraciji od 1%; uzorak F2 – sredstvo za geliranje kasntan guma, u koncentraciji od 4%; uzorak F3 – sredstvo za geliranje karmeloza-natrijum, u koncentraciji od 5% i uzorak F4 – sredstvo za geliranje hipromeloza, u koncentraciji od 5%.

Sve gel-podloge su sadržale 10% propilenglikola, kao humektansa i 0,175% natrijum-benzoata, kao konzervansa. Za izradu gelova sa karbomerom, kao sredstvo za neutralizaciju je korišćen je trietanolamin (u obliku 10%-tnog rastvora), u koncentraciji od 1,4% u finalnom gelu. Uzorci sa oznakom „A“ sadržali su 0,05% meloksikama (0,5 mg/ml). Uzorci sa oznakom „B“ su sadržali 2% pojačivača ukusa, a uzorci sa oznakom „C“ su sadržali i meloksikam (0,05%) i pojačivač ukusa (2%). Aktivna supstanca meloksikam je dodata u obliku usitnjenih/sprašenih tableta Movalis® 15 mg u količini koja odgovara udelu od 0,05%. U sastav tableta Movalis® 15 mg ulaze sledeće pomoćne supstance: natrijum-citrat, dihidrat; laktoza, monohidrat; celuloza, mikrokristalna; povidon K25; silicijum-dioksid, koloidni, bezvodni; krospovidon i magnezijum-stearat. Količina laktoze u Movalis® 15 mg tabletama je 20 mg po tableti (11). Sastav izrađenih uzoraka je dat u tabeli 1.

Uzorci su izrađivani ručno, u pateni sa pistilom. Gel-podloga sa karbomerom (F1) je izrađena u skladu sa propisom za hidrofilni gel karbomera (*Carbomeri mucilago*) iz Magistralnih formula 2008 (13). Po ovom propisu, karbomer (Carbopol 974P) je izmešan sa malom količinom sveže prokuvane i ohlađene prečišćene vode. Ostatak sveže prokuvane i ohlađene prečišćene vode je dodat postepeno, a mešanje je vršeno da se dobije disperzija bez grudvica. U disperziju je, uz mešanje, dodata propisana količina propilenglikola, a nakon toga i rastvor trietanolamina. Izrađenom gelu je, uz mešanje, dodat rastvor konzervansa natrijum-benzoata u delu prečišćene vode. Za izradu gel-podloga sa ksantan gumom (F2), karmeloza-natrijum (F3) i hipromelozom (F4) korišćen je sledeći postupak izrade: odmerena propisana količina sredstva za geliranje se rastrlja sa propilenglikolom i dodaje u porcijama sveže prokuvana i ohlađena vode, u kojoj je rastvoren konzervans. Pripremljeni uzorci su ostavljeni određeno vreme do postizanja konzistencije gela. Deo izrađenih gel-podloga je korišćen za izradu ostalih uzoraka.

Uzorci sa oznakom „A“ su pripremljeni tako što su u dobro usitnjene tablete meloksikama u pocijama dodavane gel-podloge, a mešanje je vršeno do izrade homogenih preparata. Uzorci sa oznakom „B“ su pripremljeni tako što su pojačivaču ukusa u pocijama dodavane gel-podloge, a mešanje je vršeno do izrade homogenih preparata. Uzorci sa oznakom „C“ su pripremljeni tako što su u

smešu dobro usitnjenih tableta meloksikama i pojačivača ukusa u pocijama dodavane gel-podloge i mešanje vršeno do izrade homogenih preparata. Izrađeni gelovi su pakovani u plastične kutije neposredno nakon izrade i čuvani na sobnoj temperaturi (20±2℃).

REZULTATI

Farmaceutsko - tehnološka karakterizacija izrađenih oralnih gelova je obuhvatala organoleptičko ispitivanje koja su obuhvatila procenu konzistencije, izgleda, boje, mirisa i homogenosti preparata 48 sati i 30 dana nakon izrade. Posmatranjem pripremljenih uzoraka 48 sati nakon izrade je uočeno da su uzorci podloga F1, F2, F3 i F4 bili polučvrste konzistencije, bistri, bezbojni, homogeni, bez mirisa. Uzorak F3, izrađen sa karmeloza-natrijum kao sredstvom za geliranje, bio mekše konzistencije. Dodatak meloksikama (uzorci F1A-F4A) je doveo do promene boje u svetlo žutu, uz blago zamućenje, bez uticaja na konzistenciju. Dodatak pojačivača ukusa je uticao na boju i miris uzoraka (pojačivač ukusa predstavlja prašak narandžaste boje i karakterističnog mirisa na ribu). Uzorci sa pojačivačem ukusa i karbomernom gel-podlogom (F1B i F1C) su bili znatno mekši.

Organoleptičkim ispitivanjima uzoraka F1, F3 i F4 30 dana nakon izrade je utvrđeno da nije bilo vidljivih promena u odnosu na svojstva uočena 48 sati nakon izrade (tabela 2). Kod svih uzoraka izrađenih sa ksantan gumom (F2-F2C), 30 dana nakon izrade, došlo je do mikrobiološke kontaminacije (uočena je pojava plesni u uzorcima), te su ovi uzorci isključeni iz daljih ispitivanja.

Tabela 1. Sastav ispitivanih uzoraka

Uzorak	**Meloksikam (%)**	**Pojačivač ukusa (%)**	**Sredstvo za geliranje, koncentracija**
F1	-	-	Carbopol® 974P 1%
F1A	0,05	-	
F1B	-	2	
F1C	0,05	2	
F2	-	-	Ksantan guma 4%
F2A	0,05	-	
F2B	-	2	
F2C	0,05	2	
F3	-	-	Karmeloza-natrijum 5%
F3A	0,05	-	
F3B	-	2	
F3C	0,05	2	
F4	-	-	Hipromeloza 5%
F4A	0,05	-	
F4B	-	2	
F4C	0,05	2	

Tabela 2. Organoleptičke karakteristike ispitivanih uzoraka

Uzorak	Izgled (bistrina)		boja		miris		konzistencija	
	nakon 48 h	nakon 30 dana	nakon 48 h	nakon 30 dana	nakon 48 h	nakon 30 dana	nakon 48 h	nakon 30 dana
F1	bistar	bistar	nema	nema	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta
F1A	bistar	bistar	svetlo žuta	svetlo žuta	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta

F1B	blago zamućen	blago zamućen	narandžasta	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta
F1C	blago zamućen	blago zamućen	narandžasta	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta
F2	bistar	-*	nema	-*	nema	-*	polučvrsta	-*
F2A	bistar	-*	svetlo žuta	-*	nema	-*	polučvrsta	-*
F2B	blago zamućen	-*	narandžasta	-*	na pojačivač ukusa	-*	polučvrsta	-*
F2C	blago zamućen	-*	narandžasta	-*	na pojačivač ukusa	-*	polučvrsta	-*
F3	bistar	bistar	nema	nema	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta
F3A	bistar	bistar	svetlo žuta	svetlo žuta	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta
F3B	blago zamućen	blago zamućen	narandžasta	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta
F3C	blago zamućen	blago zamućen	narandžasta	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta
F4	bistar	bistar	nema	nema	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta
F4A	bistar	bistar	svetlo žuta	svetlo žuta	nema	nema	polučvrsta	polučvrsta
F4B	blago zamućen	blago zamućen	braon	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta
F4C	blago zamućen	blago zamućen	braon	braon	na pojačivač ukusa	na pojačivač ukusa	polučvrsta	polučvrsta

** mikrobiološka kontaminacija uzoraka (uočava se razvoj plesni)*

DISKUSIJA

Palatabilnost veterinarskih lekova je izuzetno važna kada su u pitanju lekovi namenjeni za primenu kod kućnih ljubimaca, te je prilikom razvoja palatabilnih lekova fokus dat na mačke kao model životinje zbog njihove ćudljive prirode pri primeni lekova (14-16). Najčešći i najisplatljivi način za poboljšanje ukusa veterinarskih lekova je da se u formulaciju dodaju arome ili zaslađivači (16,17). Arome se upotrebljavaju i u drugim tehnikama prilikom izrade veterinarskih lekova za poboljšanje palatabilnosti, kao što je oblaganje lekova (18). Utvrđeno je da mačke preferiraju ukus ukus ribe i piletine, ali da nemaju receptor za slatki ukus (19), odnosno da čak imaju averziju prema slatkom ukusu (20).

Palatabilnost veterinarski lekova namenjenih za primenu kod mačaka je moguće povećati primenom aroma i korigenasa ukusa dobijenih iz mesa, ekstraktima kvasca i jetre, ukusom piletine i ribe, te dodacima na bazi mlečnih proizvoda (15,21). Međutim, upotreba korigenasa ukusa koji su prirodnog porekla je problematična, zbog neodgovarajuće mikrobiološke čistoće, tako da je upotreba sintetskih aroma poželjnija (20). Utvrđeno je da se sa aspekta uticaja na organoleptička svojstva izrađenih gelova, upotrebljeni pojačivač ukusa sa ukusom ribe može koristiti pri magistralnoj izradi oralnih gelova.

Pri magistralnoj izradi lekova iz lekova namenjenih za primenu kod ljudi potrebno je voditi računa o ekscipijensima koji se nalaze u humanim lekovima, odnosno

da li su bezbedni za primenu kod mačaka. Tako na primer, određeni autori navode da je propilenglikol, kao često korišćen korastvarač i konzervans u humanim lekovima, za mačke je toksičan primenjen peroralno (22), ali se ova supstanca može naći u određenim registrovanim oralnim pastama za mačke. Pregledom literature utvrđeno je da je navedena količina laktoze koja ulazi u sastav Movalis® tableta prihvatljiva za primenu kod mačaka (12), obzirom da se intolerancija na laktozu javlja kod većine odraslih mačaka, tako da laktoza kao ekscipijens nije pogodna za primenu kod ove životinjske vrste (23).

Utvrđeno je da različita sredstva za geliranje (karbomer, ksantan guma, karmeloza-natrijum i hipromeloza sa aspekta farmaceutsko-tehnološke karakterizacije mogu da se koriste za izradu oralnih gelova sa meloksikamom za mačke. Naime, utvrđeno je da su sva navedena sredstva za geliranje kompatibilna sa aktivnom supstancom meloksikam i pomoćnim supstancama koje ulaze u sastav Movalis® tableta, 48h i 30 dana nakon izrade.

ZAKLJUČAK

Rezultati sprovedenih ispitivanja ukazuju da se izabrani polimeri (karbomer, ksantan guma, karmeloza-natrijum i hipromeloza) mogu koristiti kao sredstva za geliranje u formulaciji oralnih gelova sa meloksikamom za mačke, iako su uočene određene razlike u pogledu njihovih organoleptičkih karakteristika. Dalja istraživanja su neophodna kako bi se ispitala komplijansa izrađene farmaceutske formulacije.

LITERATURA

1. *Alder M. Companion animals: WSAVA embraces "one health". Vet. Rec. 2010, 167:723-724.*
2. *Zakon o lekovima i medicinskim sredstvima, Sl. Glasnik RS, broj 30/2010 i 107/2012.*
3. *Baggot J.D., Brown S.A. Basis for selection of the dosage form. In: Hardee G., Baggot J. (Eds): Development and formulation of veterinary dosage forms, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, Unites States of America, 1998, 7-143.*
4. *Papich M.G. Drug compounding for veterinary patients. The AAPS journal 2005, 7(2):E281-E287.*
5. *Đekić Lj, Čalija B, Vuleta G. Izrada magistralnih i galenskih lekova-propisi i standardi. Arh Farm. 2013, 63:443-469.*
6. *Remington – The science and Practice of Pharmacy, 22nd ed. 2012. London: Pharmaceutical Press.*
7. *European Medicines Agency. EMA Guideline on the demonstration of palatability of veterinary medicinal products, 2014. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-demonstration-palatability-veterinary-medicinal-products_en.pdf Accessed 06.03.2020.*
8. *Hullár I., Fekete S., Andrásofszky E., Szöcs Z., Berkényt T. Factors influencing the food preference of cats. J. Anim. Physiol. An. N. 2001, 85:205-211.*
9. *Hautala J., Airaksinen S., Naukkarinen N., Vainio O., Juppo A.M. Evaluation of new flavors for feline mini-tablet formulations. J. Excipients and Food Chemicals 2016, 5(2):946.*
10. *European Pharmacopoeia, 9th edition. 2016. Strasbourg: Council of Europe.*
11. *Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Sažetak karakteristika leka Movalis tablete, 15 mg. Available at: https://www.alims.gov.rs/wp-content/blogs.dir/2/files/lekovi/smpc/515-01-4107-12-001.pdf Accessed 02.3.2019.*
12. *Kienzle E. Carbohydrate metabolism of the cat. 3. Digestion of sugars. J. Appl. Physiol. Anim. Nutr. 1993, 70: 89-96.*
13. *Magistralne formule, Beograd: Farmaceutsko društvo Srbije, 2008.*
14. *Hautala J. 2017. Improving the Palatability of Minitablets for Feline Medication. Academic dissertation. Faculty of Pharmacy. University of Helsinki Finland. 2017.*

15. *Thombre AG. Oral delivery of medications to companion animals: Palatability considerations. Adv. Drug Deliver. Rev. 2004, 56: 1399-1413.*
16. *Riviere J.E. The future of veterinary therapeutics: A glimpse towards 2030. Vet. J. 2007, 174: 462-471.*
17. *Kasraian K., Thombre A.G. Palatable pharmaceutical compositions for companion animals. European Patent 1. 247, 2002, 456.*
18. *Bernachon M., McGahie D., Corvaisier D., Benizeau E., Crastes N., Chaix G. Comparative palatability of two veterinary dewormers (Milpro® and Milbemax®): a blinded randomized crossover cat study. Vet. Rec. Open. 2014, 1: 1-4.*
19. *Li X., Li W., Wang H., Bayley D.L., Cao J., Reed D.R., Bachmanov A.A., Huang L, Legrand-Defretin V., Beauchamp G.K., Brand J.G. Cats lack a sweet taste receptor. J. Nutrit. 2006, 136, 1932s-4s.*
20. *Kienzle E. Carbohydrate metabolism of the cat. 3. Digestion of sugars. J. Appl. Physiol. Anim. Nutr. 1993, 70: 89-96.*
21. *Hautala J., Airaksinen S., Naukkarinen N., Vainio O., Juppo A.M. Evaluation of new flavors for feline mini-tablet formulations. J. Excipients and Food Chemicals 2016, 5(2):946.*
22. *Christopher M.M., Perman V., Eaton J.W. Contribution of propylene glycol-induced Heinz body formation to anemia in cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1989, 194:1045-1056.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 343.621:569.723
Kukurić et al., pp 68-72

BLIZANAČKI ABORTUS KOD KOBILA - PRIKAZ SLUČAJA

TWIN MARE ABORTION - CASE REPORT

Tijana Kukurić [a*], Mihajlo Erdeljan[a], Ivana Davidov[a], Milica Veselinović[a], Ivan Galić[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
[*]*Autor za kontakt: tijana.kukuric@gmail.com*

SAŽETAK

Uprkos poboljašnim tehnikama praćenja graviditeta i primeni ultrazvučnih pregleda, abortus predstavlja čest uzrok ekonomksih gubitaka za uzgajivače. Blizanački graviditet uzrok je abortusa u 10-30% slučajeva. Najefikasnija preventiva blizanačkih abortusa je u redukciji jednog ploda, manuelnom tehnikom eliminacije jednog embriona. U radu je prikazan slučaj ponovljenog blizanačkog abortusa kobile. Dijagnostički postupak izveden je 16. dana nakon pripusta, uz pomoć ultrazvuka, kada je ustanovljeno da se radi o unilateralnom blizanačkom graviditetu. Vlasniku je predočen moguć ishod, a zatim i predložena redukcija jednog ploda, manunelnom tehnikom otklanjanja embriona, koju je vlasnik odbio. Do abortusa je došlo u 7. mesecu graviditeta. Na osnovu kliničkog pregleda kobile i abortirane ždrebadi i laboratorijske potvrde, isključena je infektivna etiologija. S obzirom na rizik koji nosi blizanački graviditet kobila, vlasnicima uvek treba predložiti redukciju ploda, kao i uputiti ih na značaj pravovremenog dijagnostičkog postupka i praćenja graviditeta. Ponovljen blizanački abortus ove kobile, ide u prilog potrebi za veterinarskim pregledom ždrebnih kobila i savetovanjem vlasnika. U radu je prikazan slučaj ponovljenog abortusa kobile, uz opisanu dijagnostičku proceduru i predloženu preventivnu meru, sa ciljem da se ukaže na značaj blagovremenog dijagnostičkog pristupa i odabira adekvatne preventivne mere.

Ključne reči: abortus, blizanci, kobila.

ABSTRACT

Despite improved pregnancy monitoring techniques and the use of ultrasound examinations, abortion is a common cause of economic losses for growers. Twin pregnancy causes abortion in 10-30% of cases. The most effective prevention of twin abortions is the reduction of one fetus by the manual technique of crushing one embryo. The paper presents a case of repeated twin mare abortion. The diagnostic procedure was performed on the 16th day after mating, with the help of ultrasound, when unilateral twin gravity was established. Possible outcome was presented to the owner, followed by a proposed reduction of one fetus, by the manual crush technique, to remove one embryo, which the owner rejected. Abortion occurred in the 7th month of pregnancy. Based on clinical examination of the mare and aborted foal, and with laboratory confirmation, infectious etiology was excluded. Considering the risk of twin mare pregnancy, owners should always be advised to reduce twins, as well as to advise them on the importance of timely diagnostic and pregnancy monitoring. Repeated twin abortion of this mare, is the proof of need for veterinary examination of the foal mares and advising the owners. The paper presents a case of repeated abortion of a mare, with the

described diagnostic procedure and the proposed preventive measure, with the aim of pointing out the importance of timely diagnostic approach and selecting an adequate preventive measure.

Key words: abortion, twins, mare.

UVOD

Abortus predstavlja jedan od najvećih ekonomskih gubitaka za uzgajivače konja (1). Uprkos poboljšanim tehnikama praćena graviditeta i primeni ultrazvučnih pregleda, blizanački gravidetet i dalje ostaje uzrok ekonomskog gubitka, koji rezultira sa 10-30% pobačaja kobila (1, 2, 3). U manje od 9% blizanačkih graviditeta, kobila iznese oba ploda, a u 21% uspešno iznese jedno živo ždrebe (3), iako u dostupnoj literaturi nije zabeležen slučaj uzastopnog blizanačkog graviditeta koji su završeni abortusom. Stopa preživljavanja plodova ne samo da je niska, već i dugoročna budućnost potomstva takođe nije povoljna (4). Pored toga, blizanački graviditet povezan je sa većim rizikom od distokije i zahteva više praćenja i pomoći oko partusa, u poređenju sa uniparim graviditetom (4,5). Uz pomoć transrektalne ultrasonografije, frekvencije od 1-7,5 MHz, graviditet se može otkriti već od devetog dana gestacije, dok se blizanački graviditet otkriva optimalno između 14-16. dana postovulatorno (3, 6). U približno 70% blizanačkih graviditeta, embrioni bivaju fiksirani u istom materičnom rogu, što značajno otežava normalan razvoj oba ploda, a često se završava prirodnom redukcijom jednog embriona (5). Redukcija se odigrava najkasnije do 35. dana gestacije, ali ne pre 15. dana (6). Bilateralno fiksirani blizanački graviditet, obično ne rezultira prirodnom redukcijom jednog ploda, pa u tom slučaju oba ploda prežive i do kasnijih faza graviditeta (3).

Najefikasniji veterinarski pristup u redukciji broja blizanaca je manuelna eliminacija jedne embrionalne vezikule, do 16. dana postovulatorno, kada dolazi do fiksacije embriona (4). Nakon perioda fiksacije, rizik se povećava po opstanak preostalog ploda, naročito ukoliko se radi o unilateralnom graviditetu, kada je teško izolovati samo jedan embrion, bez oštećenja drugog (6). Manja ili manuelno pristupačnija vezikula se uništava pritiskom ultrazvučne sonde (7). Preostali embrion preživljava sa uspehom većim od 90% (4, 7). Između 17-30. dana gestacije, kada je već došlo do fiksacije, primena manuelne eliminacije indikovana je samo ukoliko je moguće u potpunosti izolovati jednu embrionalnu vezikulu (6). Prema istraživanjima, ograničenjem ishrane, moguće je izazvati prirodnu redukciju ploda, mada postoji bojazan od pobačaja u 17-20% slučajeva (6,8). Nakon 30. dana, ishod opisane manuelne tehnike je neizvestan. U tom slučaju, potrebno je odvojiti embrion od membrane endometrijuma, hvatanjem i klizanjem prstiju na mestu spoja, što je tehnički zahtevnija procedura (7, 9). Pored ove, postoje i druge, invazivnije procedure koje se primenjuju u odmaklim stadijumima graviditeta, poput punkcije embrionalne vezikule, dislokacije ploda, injekcione redukcije, ali je njihov ishod rizičan (10).

Ne treba zanemariti ni infektivne činioce, koji mogu dovesti do abortusa. Najveći značaj imaju virusne infekcije, među kojima se izdvajaju virusni arteritis i Herpesvirus (11, 12). Bakterije poput Streptococcus equi subsp. zooepidemicus, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp. i Klebsiella pneumoniae, najčešće su izolovani uzročnici placentitisa, dok su za gljivični placentitis najčešće odgovorni *Aspergillus spp., Histoplasma caspulatum, Candida spp., Mucor spp., Coccidioides spp.* i *Cryptococcus neoformans* (13, 14). Kliničkim pregledom, uz laboratorijsku potvrdu, treba isključiti ova oboljenja kao moguće uzroke abortusa (13).

U radu je prikazan slučaj ponovljenog abortusa kobile sa blizanačkim

graviditetom, uz opisanu dijagnostičku proceduru i predloženu preventivnu meru, sa ciljem da se ukaže na značaj blagovremenog dijagnostičkog pristupa i odabira adekvatne preventivne mere.

OPIS SLUČAJA

Kobila rase Lipicaner, starosti 15 godina, do sada je ždrebila 7 zdrave ždrebadi, dok je u poslednjem graviditetu imala abortus. Navedena kobila prijavljena je na mobilnu kliniku Departmana za veterinarsku medicinu, radi praćenja graviditeta.

Po rečima vlasnika, prethodni graviditet završen je sredinom jula 2019. godine i to abortusom u 7. mesecu graviditeta. Kobila je pobacila blizance, gde je jedan plod bio fiziološki razvijen, u skladu sa stadijumom graviditeta, dok je drugi bio manji i delimično maceriran. Plodove ovojnice su izbačene zajedno sa plodovima. Graviditet je tekao normalno, dok jednog dana kobila nije pokazala znake nervoze, uz obilno znojenje tokom jutarnjeg obroka, a sam abortus je usledio istog dana popodne. Posle toga, kobila je ušla u ždrebeći estrus ali nije osemenjena.

Pre prirodnog pripusta, ginekološki je pregledana, manuelno i uz pomoć ultrazvuka, a nalaz je ukazivao na uterus bez osobenih promena. U uterusu nije zapažena suvišna tečnosti, dok su folikuli na jajniku bili u rastu. Istovremeno je uzet uzorak krvi, radi serološke analize na prisustvo antitela protiv Herpes virusa. Kako je serološki nalaz bio negativan, kobila je prirodno pripuštena u sledećem estrusnom ciklusu, i to sa istim pastuvom kao i prethodni put, 4. dana estrusa. Dijagnostički postupak utvrđivanja graviditeta izveden je 16. dana nakon pripusta, uz pomoć ultrazvuka, transrektalno, sa frekvencijom od 5 MHz. Ultrazvučnom pretragom uočene su dve embrionalne vezikule, na razdaljini od 20 cm, locirane unilaterano, tj. obe u desnom materičnom rogu. Vlasniku je saopšteno da se ponovo radi o blizanačkom graviditetu, a pored toga i predočen moguć ishod, tj. abortus. Predložena je redukcija jednog ploda, manuelnom tehnikom eliminacije jednog embriona, što je vlasnik odbio. Ultrazvučni pregled ponovoljen je 30. i 60. dana, kada je blizanački graviditet potvrđen, sa naizgled normalnim razvojem plodova. Graviditet je praćen tokom narednog perioda, ali je kobila abortirala u 7. mesecu graviditeta. Iz anamneze saznajemo da se kobila normalno ponašala tokom celog perioda gravidnosti. Nakon jutarnjeg obroka, posle kratkog perioda uznemirenosti, u štali je izabacila dva mrtva ždrebeta. Ovog puta, oba ploda su jednako razvijena, bez patoloških znakova na njima, kao ni na posteljicama. Plodovi su bili različitog pola.

Ždrebad su normalno razvijena u odnosu na stepen gravidnosti (slika 1, 2 i 3), a na placenti nema nikakvih promena koje bi ukazale da se radi o infektivnog etiologiji (slika 1 i 2). Placenta je sjajna, providno bela, bez prekida u kontinuitetu. Pupčana vrpca je takođe bez promena.

Herpesvirus, kao mogući uzročnik abortusa, eliminisan je serološkim testom, koji je dao negativan rezultat. Virusni arteritis isključen je terminom abortusa.

Slika 1 i 2. Abortirana ždrebad (original)

Slika 3. Abortirano ždrebe (original)

DISKUSIJA

Učestalost pobačaja kobila procenjuje se između 8 i 19%, zavisno od istraživanja, iako primat imaju abortusi infektivne etiologije (1, 2). Sigurna i pravovremena dijagnoza ima ključnu ulogu u vođenju graviditeta i eliminaciji abortusa. Na neuspeh u pravilnom otkrivanju blizanačkog graviditeta mogu uticati: nepotpun ginekološki pregled; prerano vršenje ultrazvučnog pregleda; loša rezolucija ultrazvučne slike (5); poteškoće u razlikovanju endometrijalnih cista od embrionalnih vezikula, u ranom graviditetu; prisustvo embrionalnih vezikula koje su pozicionirane usko, jedan pored druge, što otežava postavljanje tačne dijagnoze blizanačkog graviditeta, na osnovu samo jednog pregleda (4). Zato je ponavljanje ultrazvučnog pregleda indikovano, kako bi se obezbedila precizna dijagnoza.

Ultrazvučnim pregledom, najranije između 14. i 16. dana gestacije, moguće je postaviti dijagnozu blizanačkog graviditeta (3). U prikazanom slučaju, inicijani pregled izvršen je 16. dana, nakon pripusta. Primenom manuelne tehnike eliminacije jednog embriona, sa ciljem redukcije graviditeta na jedan plod, prisutan je rizik od oštećenja oba ploda. Kod unilateranih graviditeta, redukcija je značajno otežena bliskom pozicijom fiksiranih embriona za matericu (6). Međutim, ultrazvučnim pregledom, uočeni embrioni imali su dovoljnu međusobnu razdaljinu da se izvede ova tehnika, bez posledica po drugi embrion. Ipak, vlasnik nije prihvatio predloženu meru.

Prema literaturnim podacima, do abortusa najčešće dolazi između 5. i 8. meseca (7), što je potvrđeno i u ovom slučaju. Postoji nekoliko različitih faktora koji mogu imati uticaj na pojavu abortusa i mrtvorođene ždrebadi. U 50% slučajeva, abortus nastaje kao posledica infektivnih oboljenja, dok se u preostalih 50% može povezati sa stresom, neadekvatnom negom,

blizanačkim graviditetom i faktorima nejasne etiologije (14). Infektivna etiologija isključena je kliničkim pregledom i laboratorijskim testom. Izostanak abnormalnosti, u izgledu pobačenih plodova i placente, isključuje bakterijsku i gljivičnu etiologiju. Herpesvirus ispitan je serološkim testom, koji je bio negativan, dok je virusni arteritis isključen na osnovu termina abortusa, s obzirom da se u tom slučaju abortus javlja u 2-3. mesecu graviditeta (13). Eliminacijom uzroka, ovaj abortus povezujemo sa blizanačkim graviditetom, koji se prema literaturnim podacima sreće u 30% slučajeva abortusa kobila (3). Pojava blizanaca je nasledna osobina i često se ponavlja (15), iako slučaj dva uzostopna blizanačka graviditeta koja su završena abortusom, nije zabeležen u literaturi.

S obzirom na rizik koji nosi blizanački graviditet kobila, vlasnicima uvek treba predložiti redukciju broja plodova, kao i edukovati ih o značaju pravovremenog dijagnostičkog postupka i praćenja graviditeta. Ponovljen blizanački abortus ove kobile, iako izuzetno redak, ide u prilog potrebi za veterinarskim pregledom ždrebnih kobila i savetovanjem vlasnika.

LITERATURA

1. *Laugier C., Foucher N., Sevin C., Leon A., Tapprest J. A 24-Year Retrospective Study of Equine Abortion in Normandy (France). Journal of Equine Veterinary Science 2011, 31(3): 116–123.*
2. *Weber R., Hospes R., Wehrend A. Causes of abortion in horses - overview of the literature and own evaluations. Tierarztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/nutztiere 2018, 46(1): 35-42.*
3. *Macpherson M.L., Reimer, J.M. Twin reduction in the mare: current options. Animal Reproduction Science 2000, 60-61: 233–244.*
4. *Raggio I., Lefebvre R.C., Poitras P., Vaillancourt D., Goff A.K. Twin pregnancy experimental model for transvaginal ultrasound-guided twin reduction in mares. Can Vet J.2008, 49(11): 1093–1098.*
5. *Mari G., Iacono E., Merlo B., Castagnetti C. Reduction of Twin Pregnancy in the Mare by Transvaginal Ultrasound-Guided Aspiration. Reproduction in Domestic Animals 2004, 39(6): 434–437.*
6. *Crabtree J.R. Management of twins in horses. In Practice 2018, 40(2): 66–74.*
7. *Wolfsdorf K.E. Management of Postfixation Twins in Mares. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 2006, 22(3):713–725.*
8. *Roberts M.A., London K., Campos-Chillon L.F., Altermatt J.L. Presumed monozygotic twins develop following transfer of an in vitro-produced equine embryo. J Equine Sci. 2015, 26(3): 89–94.*
9. *Schnobrich M.R., Riddle W.T., Stromberg A.J., LeBlanc, M.M. Factors affecting live foal rates of Thoroughbred mares that undergo manual twin elimination. Equine Veterinary Journal 2013, 45(6): 676–680.*
10. *Mc Kinnon, A.O. Management of twins. In Equine Reproduction. 2nd Edn. Eds A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala and D. D. Varner. Wiley-Blackwell, 2011, pp. 2099–2117.*
11. *Kosec M., Šterbenc N., Mrkun J., Klobučar I., Klinc P. Uticaj polno prenosivih zaraznih bolesti na uzgoj konja. Vet. Glasnik 2016, 69 (5-6):443 – 452.*
12. *Prvanović N., Cergolj M., Dobranić T., Grizelj J., Samardžija M., Getz I., Maćešić N. 2007. Laboratorijska i klinička dijagnostika gravidnosti s praćenjem rizične gravidnosti u lipicanskih kobila. Zbornik radova / Ljubešić – Zagreb: Neron doo Bjelovar, 2007, 39-46.*
13. *Kosec M., Šterbenc N., Mrkun J., Klobučar I., Klinc P. Virusni arteritis konja. Vet. glasnik 2015, 70(1-2): 51- 57.*
14. *Tibary A., Pearson L. K. Pregnancy loss in mares. Spermova 2015, 5(2): 168-188.*
15. *Pranović Babić N. Specifičnosti njege i pravilnog držanja gravidnih kobila. Zbornik radova 5. savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj, 2018.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 577.175.72
Lakić et al., pp 73-82

INDEKSI INSULINSKE REZISTENCIJE KOD EUGLIKEMIČNIH PASA

INDEXES OF INSULIN RESISTANCE IN EUGLYCEMIC DOGS

Ivana Lakić[a]*, Marko R. Cincović[a], Branislava Belić[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu – Laboratorija za patološku fiziologiju, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine – Laboratory of pathophysiology, Faculty of Agriculuture, University of Novi Sad*
**autor za kontakt: ivanalakicdvm@gmail.com*

SAŽETAK

Insulinska rezistencija, je stanje organizma koje se karakteriše smanjenom oseljivošću tkiva na cirkulišući insulin, odnosno narušene homeostaze glukoze koja se javlja usled smanjene osetljivosti tkiva na insulin. Procena insulinske rezistencije i stepena osetljivosti tkiva na cirkulišući insulin se vrši pomoću hiperinsulinemijskog euglikemijskog klampa, intravenskog i oralnog glukoza tolerans testa, kao i surogat indeksima insulinske reziistencije: HOMA-IR, QUICKI, HOMA-β. U dosadašnjoj literature nema puno podataka o vrednostima ovih indeksa kod euglikemičnih pasa. Cilj ovog rada je da se utvrde vrednosti insulina, glukoze i indeksa insulinske rezistencije, odredi njihov referentni opseg i ispita međusobna povezanost kod euglikemičnih pasa. U ogled je uključeno 34 pasa normalne telesne kondicije, starosti 3-7 godina. Nađene su sledeće vrednosti ispitivanih parametara (u 95%-nom intervalu): insulin 10,8-20,1 μU/mL; glukoza 4,73-5,55 mmol/L; GLU:INS 0,39-0,85; HOMA-IR 2,51-4,93; HOMA-β 108-228; QUICKI 0,32-0,36. Distribucija frekvencije ispitivanih parametara dobijenih u ovom ogledu ne pokazuje normalnu raspodelu. Indeksi insulinske rezistencije su mnogo jače povezani sa bazalnim vrednostima insulina nego sa bazalnim vrednostima glukoze. Zaključujemo da kod procene rizika za nastanak dijabetesa kod euglikemičnih životinja, u preventivne svrhe potrebno je određivati i koncentraciju insulina, a ne samo glukoze.

Ključne reči: psi, indeksi insulinske rezistencije, HOMA-IR, QUICKI, HOMA-β

ABSTRACT

Insulin resistance is a state of the organism represented with reduced tissue sensitivity to circulating insulin and disturbed glucose homeostasis caused by reduced tissue sensitivity to insulin. Insulin resistance and tissue sensitivity can be evaluated with hyperinsulinaemic-eugycaemic clamp, orag and intravenous glucose tolerance tests and indices of insulin resistance: HOMA-IR, QUICKI, HOMA-β. Literature does not contain data about insulin indices values in euglycaemic dogs. The aim of this study was to determine values of glucose, insulin, HOMA-IR, HOMA-β, QUICKI, GLU:INS ratio and their referent values. 34 dogs of normal body condition age 3-7 years were enrolled in this study. Following values were founded (in 95% confidence interval): insulin 10,8-20,1 μU/mL; glucose 4,73-5,55 mmol/L; GLU:INS 0,39-0,85; HOMA-IR 2,51-4,93; HOMA-β 108-228; QUICKI 0,32-0,36.

Frequencies of distributions haven't showed normal distribution. Insulin indexes indices showed stronger correlation with insulin values than with glucose values. Risk of diabetes development can be evaluated by concentrations of insulin and glucose.

Key words: dogs, insulin resistance indices, HOMA-IR, QUICKI, HOMA-β

UVOD

Insulinska rezistencija, je stanje organizma koje se karakteriše smanjenom oseljivošću tkiva na cirkulišući insulin, odnosno narušene homeostaze glukoze koja se javlja usled smanjene osetljivosti tkiva na insulin (1). To znači da su potrebne različite koncentracije insulina da bi regulisale istu količinu glukoze u organizmu. Koncentracija insulina u ovom stanju može biti normalna, povišena ili snižena (2, 3, 4). Patogeneza i razvoj insulinske rezistencije su karakterisani multistimulirajućim faktorima- glikolipotoksičnim stanjem, stvaranjem reaktivnih kiseoničnih radikala (ROS), epigenetskim faktorima, aktivacijom različitih transkripcionih puteva, povećanjem koncentracije različitih proinflamatornih citokina i predstavlja stanje hronične inflamacije (5). U humanoj medicini insulinska rezistencija se najčešće izučava kao posledica gojaznosti i visokoenergetske ishrane (6), koji za posledicu imaju nastanak *diabetes mellitus-a* tipa II, metabolički sindrom, hipertenziju i mnoge druge poremećaje u zdravstvenom statusu. Sličnost u nastanku, patogenezi i posledicama insulinske rezistencije je zapažena i kod pasa (7, 8, 9). Kliničke studije, ali i eksperimentalni modeli insulinske rezistencije se uglavnom posmatraju na gojaznim životinjama, kao i životinjama koje su u metaboličkom sindromu (10, 9,11, 12, 13), dok ne postoje objavljeni radovi na temu insulinske rezistencije kod euglikemičnih pasa.

Procena insulinske rezistencije i stepena osetljivosti tkiva na cirkulišući insulin se u humanoj i veterinarskoj medicini vrši pomoću hiperinsulinemijskog euglikemijskog klampa, koji se smatra „zlatnim standardom'' (1, 14, 15, 16). Pored njega, poznati su još intravenski i oralni glukoza tolerans test, međutim, njihova primena u svakodnevnoj praksi i različitim epidemiološkim istraživanjima je veoma ograničena usled velikih tehničkih zahteva, načina izvođenja i kontrole životinja (17). Zbog toga se u kliničku praksu uvodi jednostavniji model za procenu insulinske rezistencije- *Homeostatic Model Assessment (HOMA),* odnosno surogat indeksi insulinske rezistencije: HOMA-IR, HOMA-β i QUICKI. HOMA model kvantifikuje insulinsku rezistenciju i funkciju beta-ćelija pankreasa na osnovu bazalne koncentracije glukoze i insulina (16). Ovi surogat indeksi insulinske rezistencije su efikasni, ne zahtevaju velike materijalne troškove, lako se izvode u kliničkim, istraživačkim i epidemiološkim studijama (18), Iako postoje određena ograničenja u primeni kod pasa (15), HOMA indeks je dobijen pre više od tri decenije iz zlatnog standarda za analizu insulinske rezistnecije (hiperinsulinemijski klamp), što ga čini značajnim i primenjivim (19).

Cilj ovog rada je da se utvrde koncentracije glukoze i insulina, vrednosti indeksa insulinske rezistencije (HOMA-IR, HOMA-β i QUICKI), kao i njihova međusobna povezanost kod pasa normalne telesne kondicije u svakodnevnom kliničkom radu.

MATERIJAL I METODE

U ogled je uključeno 34 psa koja su primljena na redovan klinički pregled na Veterinarsku kliniku Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Svi psi su bili normalne telesne kondicije, starosti od 3 do 7 godina. Nakon pregleda je od svakog psa uzet uzorak za određivanje nivoa glukoze i

insulina u krvi. Uzorci krvi su uzimani u crvenu epruvetu koja je u sebi sadržala klot aktivator. Nakon centrifugiranja, jedan deo seruma je odvojen za ispitivanje koncentracije glukoze, a drugi u svrhu određivanja koncentracije insulina. Koncentracija glukoze je utvrđena na automatskom biohemijskom analizatoru marke *Rayto Chemray 120 Vet*. Određivanje glukoze vrši se posle njene enzimatske oksidacije u prisustvu glukoza-oksidaze. Dobijeni vodonik-peroksid u ovoj reakciji dalje reaguje sa 4-aminofenazonom i fenolom u prisustvu peroksidaze kao katalizatora. Dobija se crveno-ljubičasta boja čiji se intenzitet meri. Određivanje koncentracije insulina se vršilo na endokrinološkom aparatu marke *Tosoh AIA-360* pomoću imunofluorescentne metode.

Statistička obrada podataka: Određene su distribucije frekvencija ispitivanih parametara i predstavljene u vidu histograma. Parametri insulinske rezistencije su određeni po sledećim formulama: HOMA-IR= ([gluk. (mmol/ml) × ins. (μIU/ml)]/ 22,5), HOMA-β= (20× ins (μIU/ml)/ gluk (mmol/ml)-3,5), QUICKI=[1/ [log ins(μIU/ml) + log gluk (mmol/ml)]. Ispitana je normalnost distribucije frekvencija Kolmogorov-Smirnovim i Shapiro-Wilkovim testom. Određen je stepen korelacije insulina i glukoze, kao i korelacije između koncentracija glukoze i parametara insulinske rezistencije. Linearne regresije su prikazane grafički. Korišten je program za statističku obradu podataka SPSS (IBM, USA).

REZULTATI

Parametri deskriptivne statistike prikazani su u tabeli 1. Nađene su sledeće vrednosti ispitivanih parametara (u 95%-nom intervalu): insulin 10,8-20,1 μU/mL; glukoza 4,73-5,55 mmol/L; GLU:INS 0,39-0,85; HOMA-IR 2,51-4,93; HOMA-β 108-228; QUICKI 0,32-0,36. Distribucija frekvencije ispitivanih parametara dobijenih u ovom ogledu ne pokazuje normalnu raspodelu (pogledati statističku značajnost testova normalnosti u tabeli 2). Izgled histograma i odstupanje dobijenih vrednosti u odnosu na vrednosti u normalnoj distribuciji prikazani su na grafikonima 1-12. Koncentracija insulina i glukoze nisu u signifikantnoj korelaciji. Indeksi insulinske rezistencije su mnogo jače povezani sa bazalnim vrednostima insulina nego sa bazalnim vrednostima glukoze (veći koeficijent korelacije) (Tabela 3). Grafički reprezent linerarne regresione analize između parametara prikazana je na grafikonu 13. Prikazano je da kada se u regresioni odnos stavi insulin ili glukoza sa indeksima insulinske rezistencije, variranje indeksa insulinske rezistencije oko regresione linije sa insulinom je mnogo manje dok je variranje u odnosu na regresionu liniju sa glukozom mnogo veće, što potvrđuje računski dobijene podatke o dominantnoj ulozi insulina u formiranju vrednosti indeksa insulinske rezistencije u odnosu na glukozu. Smer veze je rezultat položaja insulina i glukoze u formuli za izračinavanje indeksa insulinske rezistencije.

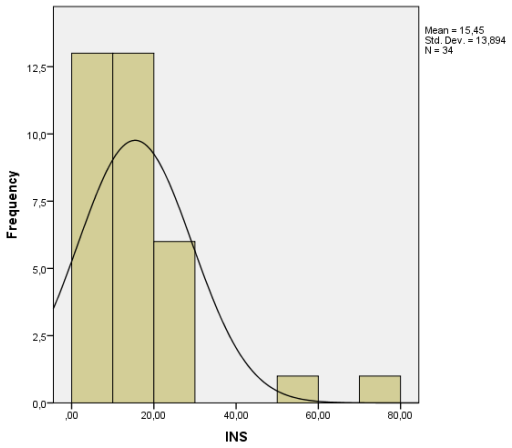
Tabela 1: Deskriptivna statistika za ispitivane parametre vrednosti insulina, glukoze i indeksa insulinske rezistencije

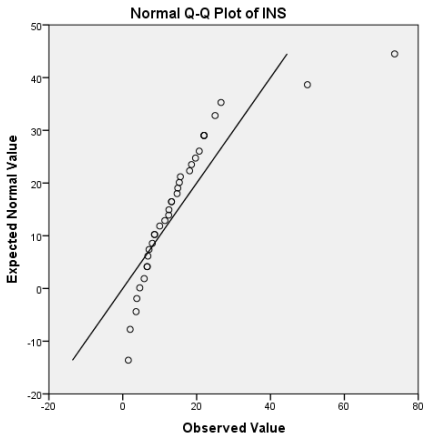
	95CI	Min	Max	Srednja vrednost	SD	Skewness	Kurtosis
INSULIN	10,8-20,1	1,50	73,60	15,45	13,89	2,72	9,44
GLUKOZA	4,73-5,55	1,60	7,20	5,14	1,23	-1,25	2,53
GLU:INS	0,39-0,85	0,08	3,13	0,62	0,69	2,95	8,92
HOMA-IR	2,51-4,93	0,31	18,65	3,72	3,61	2,57	8,59
HOMA-β	108-228	-190,00	669,09	168,90	179,11	0,96	1,41
QUICKI	0,32-0,36	0,26	0,48	0,34	0,05	0,94	0,39

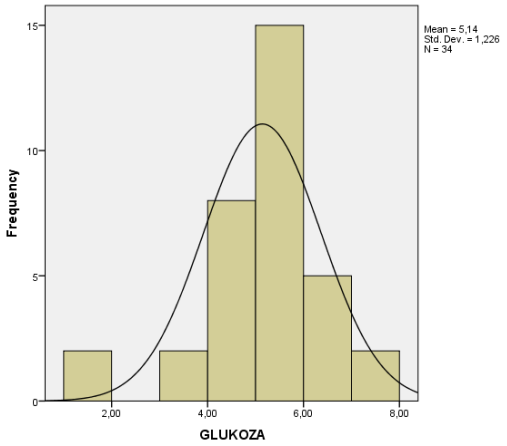
Tabela 2: Ispitivanje normalnosti distribucije frekvencije za ispitivane parametre

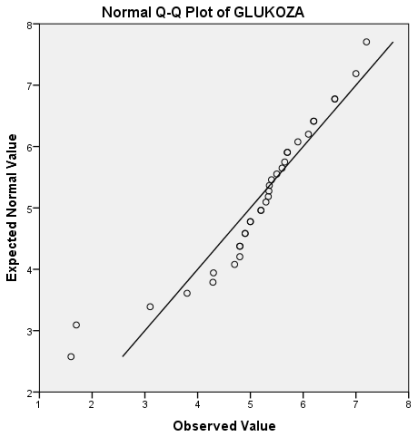
	Kolmogorov-Smirnov test		Shapiro-Wilk test	
	Vrednost	**p**	**Vrednost**	**p**
INSULIN	0,201	0,001	0,727	0,000
GLUKOZA	0,184	0,005	0,894	0,003
GLU:INS	0,261	0,000	0,606	0,000
HOMA-IR	0,208	0,001	0,748	0,000
HOMA-β	0,152	0,044	0,924	0,021
QUICKI	0,195	0,002	0,918	0,014

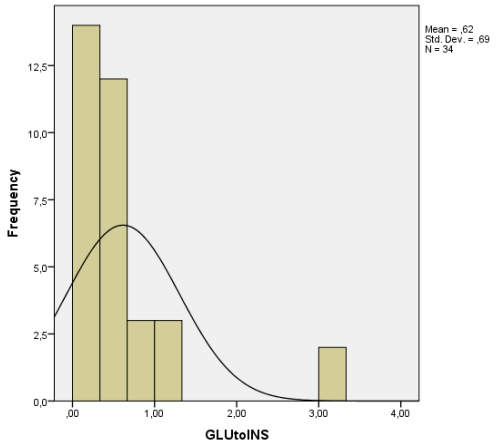
Grafikoni 1-12: Distribucija frekvencije i Q-Q plot odstupanja od normalne distribucije frekvencije

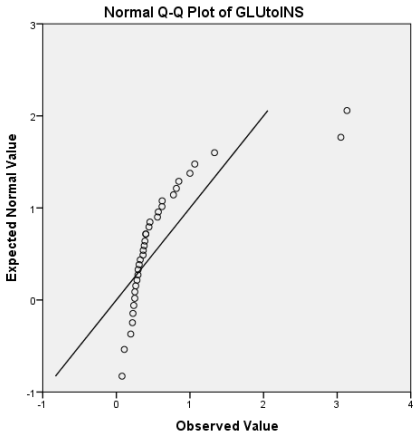


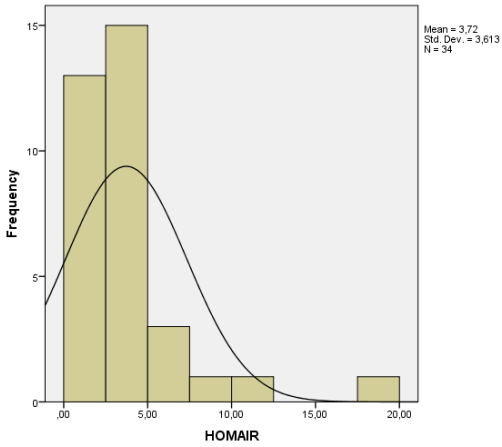


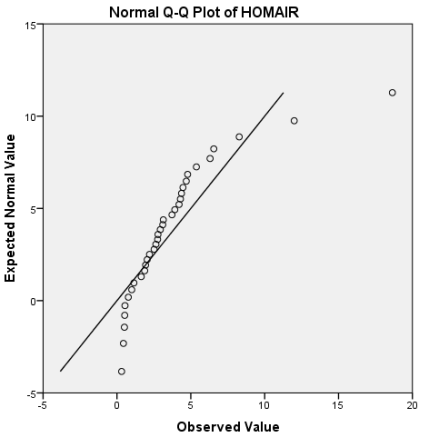


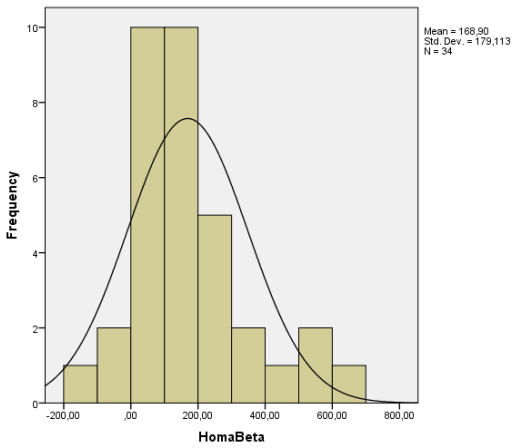


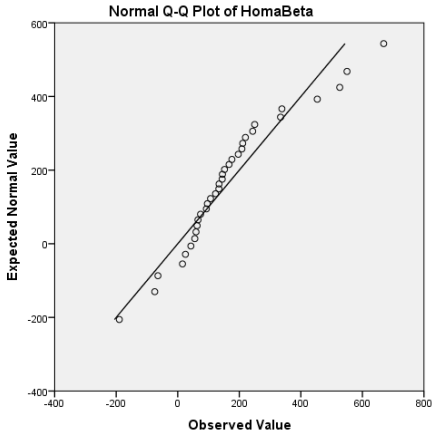

Mean = ,62
Std. Dev. = ,69
N = 34
Frequency
GLUtoINS


Normal Q-Q Plot of GLUtoINS
Expected Normal Value
Observed Value


Mean = 3,72
Std. Dev. = 3,613
N = 34
Frequency
HOMAIR


Normal Q-Q Plot of HOMAIR
Expected Normal Value
Observed Value


Mean = 168,90
Std. Dev. = 179,113
N = 34
Frequency
HomaBeta


Normal Q-Q Plot of HomaBeta
Expected Normal Value
Observed Value

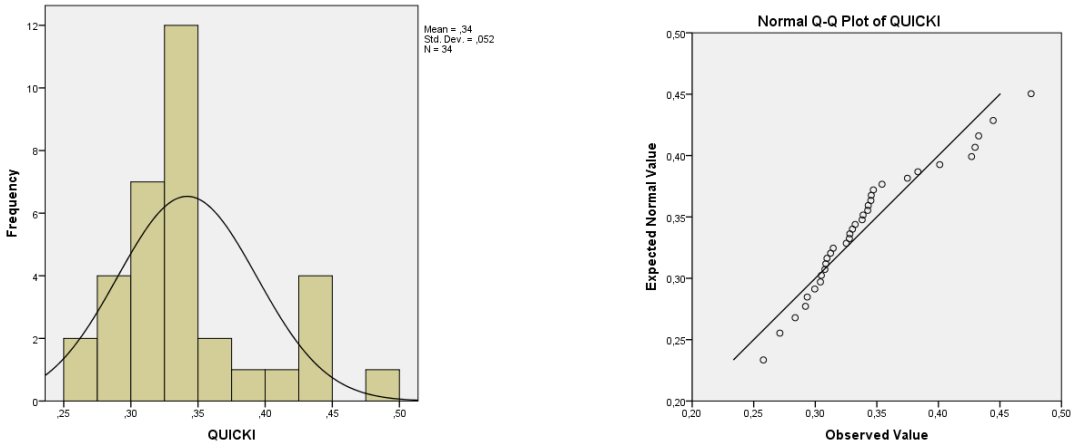
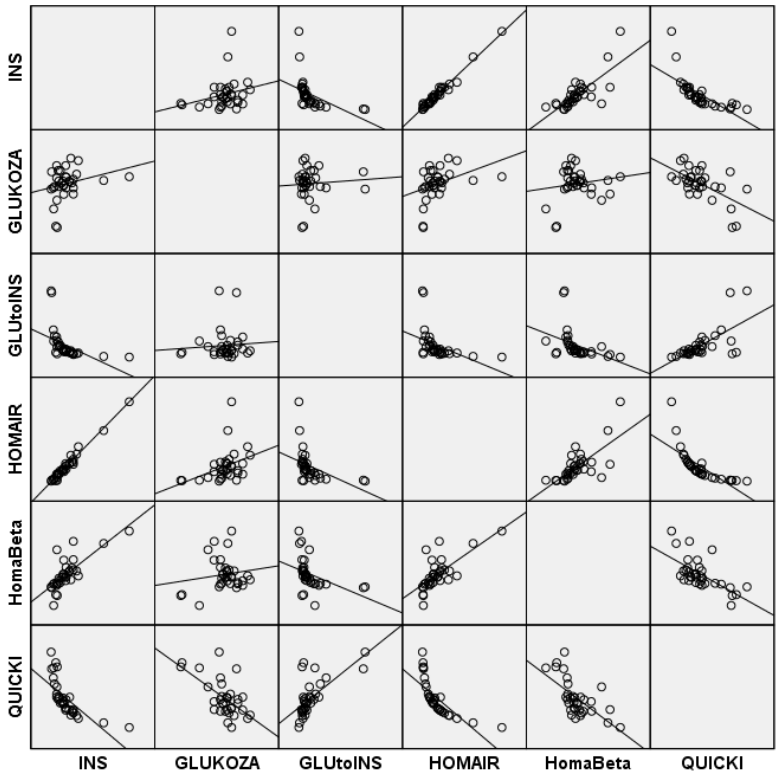


Tabela 3: Korelacija između insulina i glukze i ispitivanih indeksa insulinske rezistencije

	INSULIN	GLUKOZA
GLUKOZA	0,253	/
GLU:INS	-0,470**	0,074
HOMA-IR	0,986**	0,380*
HOMA-β	0,762**	0,155
QUICKI	-0,706**	-0,608**

* p<0,05; **p<0,01



Grafikon 13: Regresione linearna povezanost između glukoze, insulina i ispitivanih indeksa insulinske rezistencije.

DISKUSIJA

Dobijene vrednosti glukoze kod pasa u ovom istraživanju su u okviru fizioloških referentnih vrednosti (3,025-6,6 mmol/L) po kojima se vodi Laboratorija za patološku fiziologiju, Poljoprivredni Fakultet Novi Sad, sa prosečnom vrednosti od 5,15 mmol/L. Sve životinje u ogledu su bile normoglikemične. Koncentracije insulina kod životinja u našem ogledu su se kretale od 10-20,1 µIU/L sa prosečnom vrednosti od 15,45 µIU/L. Referentne vrednosti koje su validne u Laboratoriji za patološku fiziologiju Poljoprivrednog fakulteta su: 1,1-17,0 µIU/L. Referentni opsezi insulina Kembridžovih specijalnih laboratorija su 4,4-17,6 µIU/L. Ove referentne vrednosti su u svom radu koristili Collings i sar. (2012) (20), Gow i sar. (2011) (21), Kovalik i sar. (2011) (22). Razlike u referentnim opsezima su razlikuju u svakoj laboratoriji i specifični su samo za nju. Vidimo da je u navedenim istraživanjima metoda kojom su dobijene koncentracije insulina komercijalna čvrsto-fazna imunoradiodifuzija, dok se u Laboratoriji za patološku fiziologiju koristi imunofluorescentna metoda. Po referentnim opsezima naše laboratorije, uočavamo da, iako su sve životinje euglikemične, kod nekih postoji veća ili manja hiperinsulinemija, što ukazuje na postojanje smanjene senzitivnosti, odnosno, povećane rezistencije tkiva na insulin. Insulinska rezistencija je pokazala tendenciju da se razvija kod ljudi i životinja koji pokazuju normoglikemiju, odnosno koncentracija glukoze biva u referentnom opsegu. Fizička neaktivnost, genetska predispozicija, nutritivni faktori i mnogi drugi doprinose nastanku insulinske rezistencije, a ne moraju uticati na promenu same koncentracije glukoze u krvi (15, 16)

QUICKI predstavlja surogat indeks insulinske rezistencije koji procenjuje osetljivost, odnosno, senzitivnost perifernih tkiva na cirkulišući insulin. On se izračunava iz bazalnih vrednosti koncentracije glukoze i insulina u krvni i predstavlja dobar prediktor nastanka insulinske rezistencije (16). QUICKI je najbolji surogat indeks za procenu rezistencije kod nedijabetičnih pacijenata (18), a dobar je prediktor nastanka i razvitka dijabetesa, čak i kod euglikemičnih pacijenata (23). Vrednosti ovog indeksa u našem istraživanju su 0,32-0,36 sa srednjom vrednosti 0,34. Gutch i sar. (2015) (16) su za humani model dali sledeće vrednosti QUICKI indeksa: negojazni 0,382, gojazni 0,331 i pacijenti sa dijabetesom 0,304. U istraživanju na humanim modelima Yokoyama i sar. (2003) (18) su dobili sledeće vrednosti za gojazne pacijente 0,338, dok je vrednost kod zdravih iznosila 0,389. Razlike koje su zabeležene ukazuju da postoji razlika kod ljudi i pasa i da su potrebna dodatna istraživanja kako bi se odredili referentni opsezi kod ove životinjske vrste.

HOMA-IR indeks, koji je u direktnoj vezi sa koncentracijom cirkulišuće glukoze i insulina, predstavlja bazalni test, kada nema stimulacije lučenja insulina. Tokom gladovanja, nema egzogenog unošenja glukoze, samim tim i lučenja insulina. Tako ovaj indeks, kao i ostali bazalni, meri hepatičnu insulinsku senzitivnost, pre nego perifernu. Istraživanjima se došlo do zaključka da je u najvećem broju slučajeva hepatična senzitivnost proporcionalna senzitivnosti perifernih tkiva na insulin, pa se HOMA-IR koristi za procenu periferne rezistencije (8). U našem istraživanju vrednosti HOMA-IR indeksa su iznosile 2,51-4,93, sa srednjom vrednosti 3,72. U humanoj medicini vrednosti HOMA-IR indeksa 1 se smatra fiziološkom, i dobija se na osnovu prosečne koncentracije glukoze 4,5 mmol/L i insulina 5µIU/L (23). Tohidi i sar. (2014) (24) u istraživanju navode da su ref. vrednosti insulina 1,61-11,37 µIU za muškarce, 2,34-11,98 µIU/L za žene i 2,11-12,49 µIU/L za populaciju. Vidimo da su referentne vrednosti insulina kod ljudi manje u odnosu na referentne vrednosti za pse, a kako insulin direktno utiče na vrednosti ovog indeksa, ne mogu se uzeti u obzir podaci iz humane populacije. Podaci o HOMA-IR indeksu euglikemičnih pasa nisu pronađeni u literaturi, dok su kod gojaznih pasa, kao i

pasa sa insulinskom rezistencijom Stagakis i sar. (2012) (25) pronašli povećane vrednosti ovog indeksa. Lakić i sar. (2019) (26) su pokazali da vrednosti HOMA-IR indeksa zavise i od koncentracije TNF-α, pa euglikemični psi koji imaju nedetektabilne koncentracije ovog citokina imaju vrednosti HOMA-IR 3,1, a psi kod kojih je detektovan TNF-α pokazuju vrednosti HOMA-IR od 4,5. Pokazano je da ovaj citokin dovodi do rezistencije insulinskih receptora, čime se uzrokuje povećanje koncenracije insulina i HOMA-IR indeksa (13). Ne postoje podaci o vrednosti HOMA-IR u svakodnevnom kliničkom radu kod euglikemičnih pasa.

HOMA-β je treći od surogat indeksa insulinske rezistencije koji je ispitan u ovoj studiji. Vrednosti koje smo dobili su u rasponu od 108-228, sa prosečnom vrednosti 168,90. Ovaj indeks ukazuje na sekretornu sposobnost beta ćelija pankreasa. Poznato je da u humanoj i veterinarskoj medicini insulinska rezistencija i nastanak dijabetes mellitusa karakteriše opadanjem HOMA-β indeksa i da on može da se koristi kao prediktor nastanka metaboličkih poremećaja (Song 2007). U literature ne postoje vrednosti ovog indeksa računate za euglikemične pse u svakodnevnom kliničkom radu. U humanoj medicine, istraživanje Songa i sar. (2007) (27) je pokazalo da žene koje su u metaboličkom sindromu imaju vrednost ovog indeksa 75,1 (44,6-118), dok zdrave pokazuju vrednost 81,7 (56,1-120). Rezultate koji su suprotni, gde HOMA-β raste kod dijabetične populacije (HOMA-β=115), a smanjen je kod zdravih (HOMA-β=99) su pokazali Sung i sar. (2008) (28). Ovo razlike mogu biti objašnjene različitim tipovima dijabetesa, kao i stepenom destrukcije beta-ćelije pankreasa koje luče insulin. Posledično tome, različite koncentracije insulina utiču na različitosti ovog indeksa. Lakić i sar. (2019) (26) su pokazali smanjenje ovog indeksa kod euglikemičnih pasa koji u krvi imaju povećane koncentracije faktora nekroze tumora alfa (TNF-α). Kod njih je HOMA-β pokazao prosečnu vrednost 140, dok je kod zdravih pasa on bio 250. Ovo je objašnjeno toksičnim i apoptotičnim dejstvom koje TNF-α ispoljava na beta-ćelije pankreasa, što uzrokuje smanjenje insulina u krvi. U ovoj studiji dokazano je da postoje životinje kod kojih je HOMA-β manji nego u prethodnom istraživanju, što ukazuje da euglikemične životinje, pored normalnih koncentracija glukoze, imaju predispoziciju za nastanak dijabetesa tipa II.

Kako formule za izračunavanje sva tri indeksa insulinske rezistencije uzimaju u obzir vrednosti insulina i glukoze, ispitana je povezanost HOMA-IR, HOMA-β i QUICKI sa koncentracijom glukoze i insulina. Pokazano je je veza koncentracije insulina i ovih indeksa jača nego veza indeksa sa glukozom. Ader i sar. (2014) (15) su pokazai da se povećanje HOMA-IR može dogoditi u stanjima euglikemije kod pasa, ukoliko postoji hiperinsulinemija. Dok se promene HOMA-β događaju pretežno kod hipoinsulinemije. Na osnovu ovoga, zaključujemo da se kod procene zdravstvenog stanja psa i predispozicije za nastanak insulinske rezistencije i dijabetesa, pored koncentracije glukoze u krvi, treba odrediti i koncentracija insulina.

ZAKLJUČAK

U dosadašnoj literaturi ne postoje podaci za referentne vrednosti za HOMA-IR, QUICKI i HOMA-β kod euglikemičnih pasa, pa su vrednosti koje smo mi dobili u studiji prve do sada. Potrebna su dalja istraživanja da bi se utvrdili tačni referent opsezi koji će razlikovati zdrave životinje od životinja u insulinskoj rezistenciji. Pored toga što su sve životinje u studiji euglikemične, postoje u studiji hiperinsulinemične životinje, a koncentracija insulin znatno utiče na vrednosti indeksa insulinske rezistencije. Koncentracija insulina pokazuje veći stepen korelacije sa indeksima insulinske rezistencije, nego glukoza, pa je za procenu senzitivnosti tkiva i predikcije razvitka dijabetesa potrebno odrediti koncentraciju insulina, pored koncentracije glukoze u krvi pasa.

ZAHVALNOST

Ovo istraživanje je rezultat projekta „Uticaj i klinička procena koncentracije tumora nekroze faktora alfa (TNF-α) na inflamatorni odgovor preživara i pasa" Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovanje i nauku Vojvodine, Srbija.

LITERATURA

1. *Placzkowska S., Pawlik-Sobecka L., Kokot I., Piwowar A. Estimation of reference intervals of insulin resistance (HOMA), insulin sensitivity (Matsuda), and insulin secretion sensitivity indices (ISSI-2) in Polish young people. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2019.*
2. *Ibfelt T., Fischer C.P., Plomgaard P., van Hall G., Pedersen B.K. The acute effects of low dose TNF-α on glucose metabolism and β-cell function in humans. Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation 2014, http://dx.doi.org/10.1155/2014/295478.*
3. *Wilcox G. Insulin and insulin resistance. Clinical biochemist reviews 2005,26(2):19.*
4. *Cefalu W.T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. Exp Biol Med (Maywood) 2001, 226, 13-26.*
5. *Hamada D., Maynard R., Schott E., Drinkwater C.J., Ketz J.P., Kates S.L., Jonason J.H., Hilton M.J., Zuscik M.J., Mooney R.A. Suppressive Effects of Insulin on Tumor Necrosis Factor–Dependent Early Osteoarthritic Changes Associated With Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus. Arthritis & Rheumatology 2016, 68:1392-1402.*
6. *Elochukwu A.C., Opara U.C., Chinyere N.A., Jeremiah O.S., Chukwuma O.O. Evaluation of tumor necrosis factor alpha, insulin and homeostasis model assessment of insulin resistance among obese participants living in Calabar, Nigeria. Trop J Med Res. 2017, 20:45-52.*
7. *Gayet C., Bailhache E., Dumon H., Martin L., Siliart B., Nguyen P. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNFα, IGF1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. Journal of animal physiology and animal nutrition 2004, 88(3-4):157-65.*
8. *Verkest K.R., Fleeman L.M., Rand J.S., Morton J.M. Basal measures of insulin sensitivity and insulin secretion and simplified glucose tolerance tests in dogs. Domestic Animal Endocrinology 2010, 39: 194-204.*
9. *Verkest K.R. Is the metabolic syndrome a useful clinical concept in dogs? A review of the evidence. The Veterinary Journal 2014, 199:24-32.*
10. *German A.J., Hervera M., Hunter L., Holden S.L., Morris P.J., Biourge V., Trayhurn P. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. Domestic Animal Endocrinology 2009, 37: 214-26.*
11. *Wong S.K., Chin K.Y., Suhaimi F.H., Fairus A., Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. Nutr Med. 2016, 13(1): 1-12.*
12. *Raut S.K., Bandawane D. A Systematic Review on Animal Models of Metabolic Syndrome. International Journal of Pharma Research and Health Sciences 2018, 6(1): 2089-98.*
13. *Akash M.S.H., Rehman K., Liaqat A. Tumor necrosis factor alpha: Role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Journal of Cellular Biochemistry 2017, DOI: 10.1002/jcb.26174.*
14. *Cincović M.R., Đoković R., Belić B., Lakić I., Stojanac N., Stevančević O., Staničkov N. Insulin resistance in cows during the periparturient period. Acta Agriculturae Serbica 2018, 23(46): 233-245.*
15. *Ader M., Stefanovski D., Richey J.M., Kim S.P., Kolka C.M., Ionut V., Kabir M., Bergman R.N. Failure of homeostatic model assessment of insulin resistance to detect marked diet-induced insulin resistance in dogs. Diabetes 2014, 63(6):1914-1919.*
16. *Gutch M., Kumar S., Razi S.M., Gupta K.K., Gupta A. Assessment of insulin sensitivity/ resistance. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism 2015, 19: 160-64.*
17. *Sarafidis P.A., Lasaridis A.N., Nilsson P.M., Pikilidou M.I., Stafilas P.C., Kanaki A., Kazakos K., Yovos J., Bakris G.L. Validity and reproducibility of HOMA-IR, 1/HOMA-IR, QUICKI, and McAuley's indices in patients with hypertension and type II diabetes. Jurnal of Human Hypertension 2007, 21:709-16.*

18. *Yokoyama H., Emoto M., Fujiwara S., Motoyama K., Morioka T., Komatsu M., Tahara H., Shoji T., Okuno Y., Nishizawa Y. Homeostasis Model Assessment in Normal Range Weight and Moderate Obese Type 2 Diabetic Patients. Diabetes Care 2003, 26:2426-2432.*
19. *Hosker J.P., Matthews D.R., Rudenski A.S., Burnett M.A., Darling P., Bown E.G., Turner R.C. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and β-cell function in man. Diabetologia 1985, 28(7):401-11.*
20. *Collings A.J., Gow A.G., Marques A., Yool D., Furneaux R., Mellanby R., Watson J.P. A prospective study of basal insulin concentrations in dogs with congenital portosystemic shunts. Journal of Animal Practice 2012, DOI: 10.1111/j.1748-5827.2012.01192.x; 53, 228.*
21. *Gow A.G., Gow D.J., Bell R., Evans H., Mellanby, R.J. Insulin concentrationsin dogs with hypoadrenocorticism. Research in Veterinary Science 2011, doi:10.1016/j.rvsc.2011.04.021*
22. *Kovalik M., Thoday K.L., Handel I.G., Bronsvoort B.M., Evans H., Van Den Broek A.H., Mellanby R.J. Ciclosporin A therapy is associated with disturbancesin glucose metabolism in dogs with atopic dermatitis. Veterinary Dermatology 2011, 22, 173-180*
23. *Muniyappa R., Lee S, Chen H., Quon M.J. Current Approaches for Assessing Insulin Sensitivity and Resistance In Vivo: avantages, limitations and appropriate usage. Am J Physiol Endocrinol Metab.2007, doi:10.1152/ajpendo.00645.2007.*
24. *Tohidi M., Ghasemi A., Hadaegh F., Derakhshan A., Chary A., Ayiyi F. Age and Sex-specific reference values for fasting serum insulin levels and insulin resistance/sensitivity indices in healthy Iranian adults> Teheran Lipid and Glucose Study. Clin Biochem. 2014, 47(6):432-438.*
25. *Stagakis I., Bertsias G., Karvounaris S., Kavousanaki M., Virla D., Raptopoulou A., Kardassis D., Boumpas D.T., Sidiropoulos P.I. Anti-tumor necrosis factor therapy improves insulin resistance, beta cell function and insulin signaling in active rheumatoid arthritis atients with high insulin resistance. Arthritis Research and Therapy 2012, 14(3), R141.*
26. *Lakić I., Belić B., Cincović M., Potkonjak A., Trailović D., Kovačević Z. Relationship of Circulating Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) and Insulin Secretion and Resistance in Euglycaemic Dogs. Acta Scientiae Veterinariae 2020,48(1).*
27. *Song Y., Manson J.E., Tinker L., Howard B., Kuller L.H., Nathan L., Liu S. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and risk of diabetes in a multiethinic cohort of women. Diabetes Care 2007, 30:1747-1752.*
28. *Sung K.C., Reaven G., Kim S. Utility of Homeostasis Model Assessment of β-Cell Function in Predicting Diabetes in 12.924 Healthy Koreans. Diabetes Care 2010, 33:200-02.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 612.591
Majkić et al., pp 83-89

VREDNOSTI INDEKSA TEMPERATURE I VLAŽNOSTI VAZDUHA (THI) U SEDAM MERNIH STANICA I PROCENA TOPLOTNOG STRESA KRAVA NA TERITORIJI VOJVODINE

TEMPERATURE HUMIDITY INDEX (THI) IN SEVEN MEASURING STATIONS IN VOJVODINA REGION AND EVALUATION OF HEAT STRESS IN COW

Mira Majkić[a]*, Nada Plavša[a], Marko Cincović[a], Branislava Belić[a], Ivana Lakić[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu – Laboratorija za patološku fiziologiju, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
[a]*Department of Veterinary medicine – Laboratory of pathophysiology, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
**kontakt: miramajkic@gmail.com*

SAŽETAK

Cilj ovog rada je da se utvrde prosečne maksimalne vrednosti THI indeka u periodu maj-avgust za period od 2005 do 2015 godine na osnovu podataka iz sedam meteoroloških stanica na teritoriji AP Vojvodine i da se utvrdi njihova međusobna korelacija. Prosečne maksimalne vrednosti THI indeksa izmerene u periodu maj-avgust 2005-2015 godine bile su u rasponu od 75 do 93. Najniže vrednosti THI indeksa izmerene su na Paliću (THI 75-86), a najviša vrednosti izmerena je u Zrenjaninu (THI 77-93). Postoji pozitivna korelacija između izmerenih vrednosti THI indeksa u svih sedam mernih mesta na teritoriji AP Vojvodine, a korelacija je bila na nivou od r=0,662 do r=0,858 (p<0,001). Odstupanje izmerenih THI vrednosti od opšteg proseka za Vojvodinu za svako merno mesto kreće se u rasponu od 0-4%, a mali broj pojedinačnih merenja pokazuje odstupanje veće od 5%. Dobijeni rezultati pokazuju da su krave u periodu maj-avgust u proseku izložene toplotnom stresu. Region Vojvodine se može posmatrati kao uniformna celina prilikom procene toplotnog stresa na farmama krava zbog postojanja korelacije između dobijenih THI indeksa sa sedam mernih stanica, kao i zbog malog odstupanja njihove vrednosti od opšteg proseka. To znači da možemo koristiti podatke temperature i vlažnosti sa bilo koje merne stanice u Vojvodini bez obzira gde se nalazi farma na kojoj procenjujemo maksimalne vrednosti THI indeksa kojima su krave izložene tokom jednog meseca. Postoji mogućnost predviđanja THI indeksa tokom juna,jula i avgusta na osnovu vrednosti ovog indeksa tokom maja meseca, što zahteva dodatna istraživanja.

Ključne reči: krave, toplotni stres, THI indeks

ABSTRACT

The aim of this paper is to determine average maximum values of THI index in the period May-August for the period from 2005 to 2015 on the basis of data from seven meteorological stations in the territory of AP Vojvodina and to determine their correlation. The average maximum values of the THI index measured in the period May-August 2005-2015 were in the

range 75 to 93. The lowest values of the THI index were measured at Palic (THI 75-86), and the highest values were measured in Zrenjanin (THI 77- 93). There is a positive correlation between the measured THI index values in all seven measuring locations in the territory of AP Vojvodina, and the correlation was at the level of r = 0.662 to r = 0.858 (p <0.001). The deviation of the measured THI values from the general average for Vojvodina for each measuring place ranges from 0-4%, and a small number of individual measurements shows a deviation greater than 5%. The obtained results show that cows in the period May-August are exposed to heat stress on average. The Vojvodina region can be viewed as a uniform whole when assessing heat stress on cow farms due to the correlation between the obtained THI indices with the seven measuring stations, and because of a small deviation of their value from the general average. This means that we can use temperature and humidity data from any measuring station in Vojvodina no matter where the farm is located, where we estimate the maximum THI index values to which the cows are exposed during one month. There is a possibility of predicting the THI index during June, July and August based on the value of this index during May, which requires additional research.

Key words: cows heat stress, THI index

UVOD

THI indeks (Temperature humidity index) predstavlja odnos između temperature vazduha izražene u ºC i relativne vlažnosti vazduha izražene u %. Osim temperature i relativne vlažnosti vazduha na vrednosti THI indeksa uticaj pokazuje i brzina strjanja vetra kao i stepen insolacije (1) THI indeks je prvi put opisan od strane Thom, 1959 sa ciljem da se ispita uticaj na zravlje ljudi, a kasnije je po istom modelu ispitivan uticaj vrednosti THI indeksa na zdravstveno-produktivne osobine životinja. (2,3) U proteklih 50 godina THI indeks je pretrpeo razne modifikacije u cilju prilagođavanja procene uticaja na zdravstveno - produktivne osobine goveda. Najčešće prihvaćena formula za izračunavanje vrednosti THI indeksa je od strane Nacionalnog istraživačkog saveta 1971. (4) gde se u obzir uzima vrednost tzv. tdb (dry bulb temperature- temperatura vazduha zaštićenog od vodene pare izraženo u ºC) i RH (relative humidity- relativna vlažnost vazduha izraženo u %) (5,6).

U govedarstvu se THI indeks koristi kao model za procenu toplotnog stresa i posledica izazvanih toplotnim stresom, kao i ndikator za procenu produkcije mleka i kvaliteta sperme. Temperatura od -0,5-20ºC neznatno utiče na proizvodnju mleka. Međutim, temperatura koja dostiže tzv. kritičnu vrednost a koja se može dovesti u vezu sa proizvodnjom mleka je temperatura od 25-26 ºC (7). U stanju toplotnog stresa dolazi do akumulacije veće količine toplote, koja ne može da se eliminiše iz organizma, pa kao posledica dolazi do pregrevanja.(6) Kao posledica prisustva toplotnog stresa kod visokomlečnih krava dolazi do značajnog pada u proizodnj mleka, promena u sastavu mleka, kao i promena na nivou reproduktivnog trakta (8,9,10). Klima Vojvodine se može okarakterisati kao kontinentalna klima sa hladnim zimama i toplim letima, i dobro raspoređenim padavinama. Najzastupljeniji vetar tokom zimskog perioda je "košava" koja nastaje usled vazdušnih strujanja iz južnih delova Rusije prema Sredozemnom moru. To je hladan i jak vetar koji može da isuši zemljište i da otkrije i nosi živi pesak. Pored košave prisutan je i "Severac" koji je hladan vetar i uglavnom duva zimi. Južni" vetar je topli vetar, dok je "zapadni" najčešći i donosi kišu ili sneg. Vojvodina ima relativno male količine padavina. Najviše ih je na Fruškoj gori (više od 750 mm u proseku) i na Vršačkim planinama, zatim u zapadnoj Bačkoj. Najmanje kiše ima u severnoj Bačkoj i istočnom Banatu. U toku godine ima prosečno 18 dana kada pada sneg, ali se on održava na zemlji samo pri stalnom mrazu (11).

MATERIJAL I METODE

THI indeks i njegove vrednosti na teritoriji Vojvodine za period 2006-2016 - Temperature-humidity index: Termalni komfor krava određen je izračunavanjem indeksa temperature i vlažnosti (THI indeks, eng.temperature humidiry index) pomoću sledeće formule THI=(1,8×Temperatura)-(1-Vlažnost)×(Temperatura-14,3)+32. Podaci o temperaturi i vlažnosti dobijeni su iz zvaničnih izveštaja Hidrometeorološkog zavoda Srbije. Izračunate su prosečne mesečne vrednosti THI za svaku godinu od 2005-2016 za mesece i za merna mesta Vršac, Zrenjanin, Kikinda, Palić, Sombor, Rimski Šančevi i Sremska Mitrovica. U obzir su uzete temperature i vlažnosti izmerene u 14 časova, pa se u ovom ispitivanju radi o maksimalnim prosečnim vrednostima THI indeksa. Korišćeni su podaci za mesece maj, jun, jul i avgust, kada je najveće toplotno opterećenje krava. Utvrđena je korelacija izmerenih THI vrednosti između svih sedam mernih stanica. Uzvrđen je % odstupanja izmerene THI vrednosti za svaku mernu stanicu od opšteg izračunatog proseka. Mogućnost predviđanja maksimalnih vrednosti THI indeksa tokom juna, jula i avgusta, na osnovu vrednosti u maju mesecu utvrđena je pomoću linearne regresije i korelacije vrednosti THI indeksa u maju sa ostala tri ispitivana meseca.

REZULTATI

Prosečne maksimalne vrednosti THI indeksa izmerene u periodu maj-avgust 2005-2015 godine bile su u rasponu od 75 do 93 (Tabela 1). Najniže vrednosti THI indeksa izmerene su na Paliću (THI 75-86), a najviša vrednosti izmerena je u Zrenjaninu (THI 77-93). Postoji pozitivna korelacija između izmerenih vrednosti THI indeksa u svih sedam mernih mesta na teritoriji AP Vojvodine, a korelacija je bila na nivou od r=0,662 do r=0,858 (p<0,001) (Tabela 2). Odstupanje izmerenih THI vrednosti od opšteg proseka za Vojvodinu za svako merno mesto kreće se u rasponu od 0-4%, a mali broj pojedinačnih merenja pokazuje odstupanje veće od 5% (Grafikon 1). Mogućnost predikcije maksimalne vrednosti THI tokom juna, jula i avgusta na osnovu vrednosti iz maja meseca je moguće, jer postoji statistički značajna linearna povezanost maj-jun i maj*avgust (p<0,01) i maj-jul (p<0,05) (Grafikon2-4). Međutim koeficijent determinacije kreće se u rasponu od 1,3-4,4%, pa osim istraživačke, ova vrsta predviđanja ima malu praktičnu upotrebu i zahteva dodatna ispitivanja.

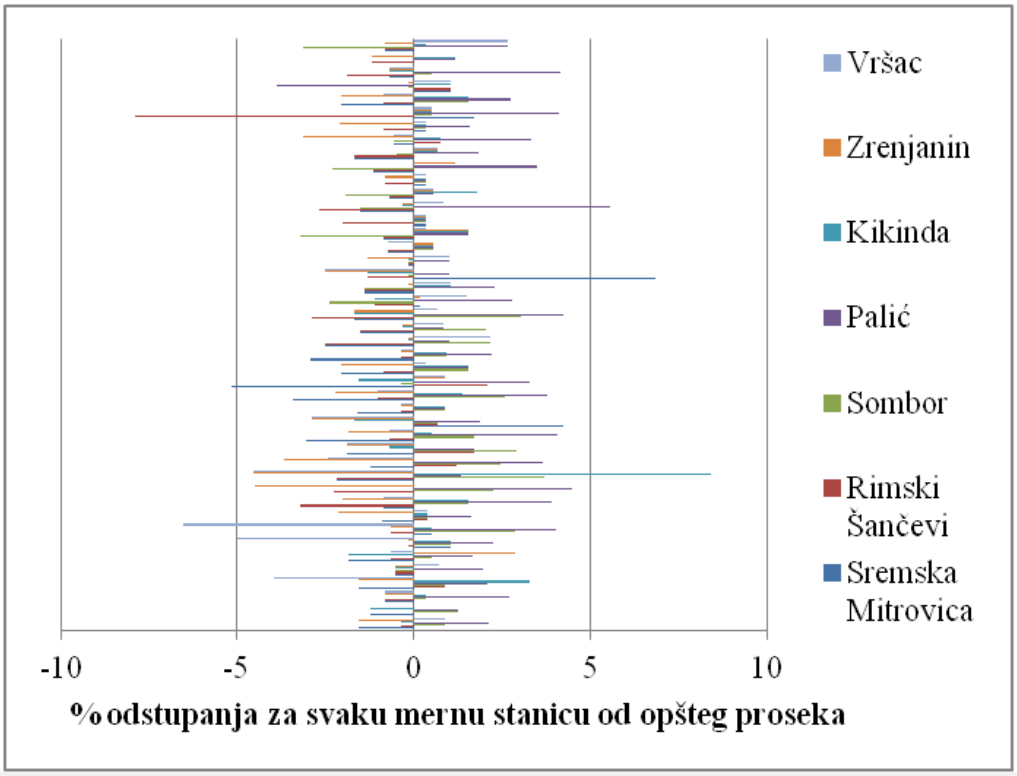
Tabela 1: Prosečne maksimalne vrednosti THI indeksa na sedam mernih stanica na teritoriji Vojvodine

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Sremska Mitrovica	44	77,00	89,00	83,8864	2,89519
Rimski Šančević	44	77,00	91,00	84,0227	3,30953
Sombor	44	77,00	89,00	82,8182	2,75574
Palić	44	75,00	86,00	81,4318	2,69709
Kikinda	44	77,00	89,00	82,8864	2,96660
Zrenjanin	44	77,00	93,00	84,0455	3,06484
Vršac	44	76,00	91,00	83,6136	3,17121

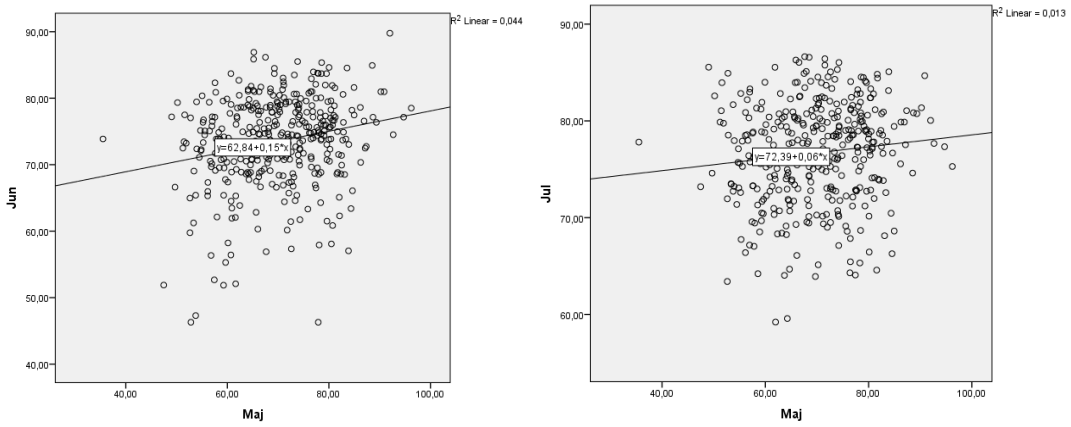
Tabela 2: Korelacioni matriks između različitih mernih stanica

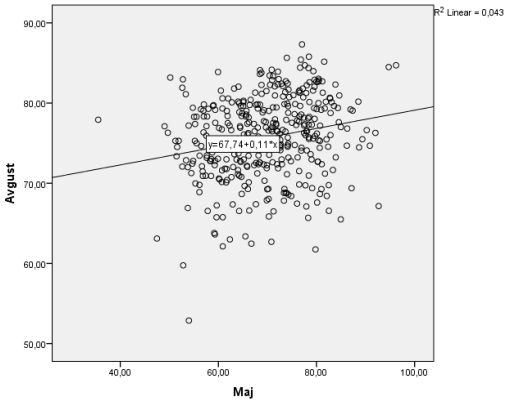
	Sremska Mitrovica	Rimski Šančević	Sombor	Palić	Kikinda	Zrenjanin
Rimski Šančević	0,748**	1				
Sombor	0,677**	0,809**	1			
Palić	0,662**	0,754**	0,784**	1		
Kikinda	0,689**	0,799**	0,817**	0,742**	1	
Zrenjanin	0,727**	0,821**	0,687**	0,754**	0,742**	1
Vršac	0,664**	0,763**	0,646**	0,730**	0,692**	0,858**

**p<0,001



Grafikon 1: Odstupanje vrednosti THI indeksa u sedam mernih stanica od izračunatog opšteg proseka





Grafikon 2-4: Korelacija i regresija maksimalne vrednosti THI indeksa u maju i letnjim mesecima (jun, jul, avgust) za svaki dan tokom 10 godina posmatranja

DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja pokazuju postojanje toplotnog stresa već u jutarnjim časovima jer su proečne najniže izmerene vrednosti THI indeksa bile iznad termalnog komfora krava u svih sedam mernih mesta. Do sličnih rezultata su došli i Beniston i sar. (2004), Black i sar. (2015) (12,13). Rezultati istraživanja pokazuju da je najveći broj dana u godini sa vrednostima THI indeksa iznad 70 bio u junu, julu i avgustu. Do sličnih rezultata su došli Majkić i sar. (2017.) (14). Ogled je imao za cilj da utvrdi srednje maksimalne vrednosti THI indeksa na teritoriji AP Vojvodine u periodu 2005-2016. godine. Rezultati istraživanja pokazuju da su tokom ispitivanog perioda vrednosti THI indeksa u letnjm mesecima imale trend povećanja. Najveći broj dana kada su vrednosti THI indeksa bile iznad termalnog komfora krava bio je u julu 2012. godine (25 dana). Na vrednosti THI indeksa osim temperature i relativne vlažnosti vazduha uticaj pokazuje i direktno dejstvo sunčevog zračenja odnosno inoslacija. Insolacija predstavlja stepen osunčansti odnosno količinu energije koju površina zemlje primi od Sunca u vidu elektromagnetnog zračenja. (15) U istraživanju Majkić i sar., (2019) (16) ispitivana je povezanost insolacije sa ambijentalnim pokazateljima toplotnog stresa. Rezultati ispitivanja pokazuju da je najveća osunčanost prisutna u letnjim mesecima. Prisutna je pozitivna korelacija između insolacije i dnevne i noćne temperature, i negativna korelacija sa vlažnoću vazduha izmerena tokom dana i noći. Vrednost insolacije pozitivno korelira sa maksimalno izmerenim vrednostima THI indeksa. Sledeći bitan faktor koji utiče na vrednost THI indeksa je brzina strujanja vetra. Herbut (2018) (17) je pokazao da veća brzina strujanja vazduha dovodi do konvekcijskog hlađenja, što može uticati na smajenje vrednosti THI indeksa tokom letnjih meseci. Mader i sar., (2006) (2) su dokazali da se sa svakim povećanjem brzine strujanja vetra za 1 m/s THI indeks smanjuje za 1,99 jedinica. Nadmorska visina je takođe bitan faktor koji pokazuje uticaj na vrednosti THI indeksa. Obzirom da je nadmorska visina Vojvodine prlično uniformna (osim Fruške gore i Vršačkih planina) ne očekuju se velike oscilacije u vednostima THI indeksa za merni period. Rezultati ispitivanja pkazuju trend porasta vrednosti u period maj-avgust. Primenom regresionih jednačina moguće je predvideti vrednosti THI indeksa u periodu jun, jul, avgust na osnovu vrednosti iz maja meseca. Ako se posmatraju maksimalne vrednosti THI indeksa tokom desetogodišnjeg proseka izmerene u maju mesecu, očekivane vrednosti THI indeksa u junu, julu i avgustu bi bile povećane za 0,15 0,08 , 0,11 jedinica. Do sličnh rezultata su došli i Bernabuci i sar., (2014) (22) Broj toplih dana u letnjim mesecima je povećan i leto u proseku počinje dve nedelje ranije (u poređenju sa podacima o početku leta, tokom

predhodnih godina) i traje dve nedelje duže. Broj dana kod kojih je prosečna dnevna temperatura iznosila 30ºC je povećan, a istraživači predviđaju da će maksimalne temperature između dve sezone iznositi od 35-48ºC. U istraživanju Hossein-Zadeh i sar., (2013) (18) je nađeno da su najviše vrednosti THI indeksa zabeležene u junu (70,8), julu (74,4), avgustu (76,9) i septembru (7,3). Rezultati istraživanja Cincović i sar., (2017) (19) pokazuju da su maksimalne vrednosti THI indeksa u periodu od 2006-2017. bile izvan termoneutralne zone. Najveći broj dana sa vrednostima THI>70 bio je tokom juna, jula i avgusta, a 2007. i 2012. godina su registrovane je kao najtoplije. Slični podaci zabeleženi su i u drugim zemljama. U Slovačkoj tokom 2003. je zabeleženo ukupno 80 dana gde su vrednosti THI indeksa bile iznad 72. Broucek i sar., (2007), Könyves i sar. (2017) i Menegassi i sar (2016) (20,21,23) su izračunali da je prosečna vrednost THI indeksa iznosila 78,41, a zabeležene vrednosti izmerene su u periodu od maja do avgusta meseca. Istraživači su zaključili da je 96% dana tokom ispitivaog perioda imao kritične vrednosti THI indeksa. Fidler i sar., (2016), Dunn i sar., (2012) (24,25) su došli do zaključka da je THI indeks dobar model za procenu toplotnog stresa kod goveda, i da se na osnovu vrednosti THI indeksa u letnjim mesecima mogu poboljšati uslovi u objektima u cilju smanjenja štetnih efekata visokih temperatura.

ZAKLJUČAK

Dobijeni rezultati pokazuju da su krave u periodu maj-avgust u proseku izložene toplotnom stresu. Region Vojvodine se može posmatrati kao uniformna celina prilikom procene toplotnog stresa na farmama krava zbog postojanja korelacije između dobijenih THI indeksa sa sedam mernih stanica, kao i zbog malog odstupanja njihove vrednosti od opšteg proseka. To znači da možemo koristiti podatke temperature i vlažnosti sa bilo koje merne stanice u Vojvodini bez obzira gde se nalazi farma na kojoj procenjujemo maksimalne vrednosti THI indeksa kojima su krave izložene tokom jednog meseca. Postoji mogućnost predviđanja THI indeksa tokom juna,jula i avgusta na osnovu vrednosti ovog indeksa tokom maja meseca, što zahteva dodatna istraživanja.

LITERATURA

1. *Herbut P., Bieda W., Angrecka S. Influence of hygrothermal conditions on milk production in a free stall barn during hot weather. Animal Science Papers Reports 2015, 33(1).*
2. *Mader T.L., Davis M.S., Brown-Brandl T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. Journal of Animal Science 2006, 84(3):712-719.*
3. *Berman A., Horovitz T., Kaim M., Gacitua H. A comparison of THI indices leads to a sensible heat-based heat stress index for shaded cattle that aligns temperature and humidity stress. International journal of biometeorology 2016, 60(10):1453-1462.*
4. *National research council. A guide to environmental research on animals. In: National Academy of Science. Washington, DC, 1971.*
5. *Lendelova J., Botto L. Evaluation of thermal–humidity index in animal housing. In Bioclimate: In: Source and Limit of Social Development International Scientific Conference. Topolcianky, Slovakia, 2011.*
6. *Bohmanova J., Misztal I., Cole J.B. Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. Journal of dairy science 2007, 90(4):1947-1956.*
7. *Dikmen S., Hansen P.J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? Journal of dairy science 2009, 92(1):109-116.*
8. *Nascimento F.G.D.O., Aguiar H.C.P., Rodrigues G. M., Guimarães E. C., Nascimento M.R.B.D.M. What is the best temperature-humidity index equation to indicate heat stress in crossbred dairy calves in a tropical environment? Ciência Rural 2019, 49(1).*

9. *Broucek J., Kisac P., Uhrincat M. Effect of hot temperatures on the hematological parameters, health and performance of calves. International journal of biometeorology 2009, 53(2):201-208.*
10. *Radkowska I., Herbut E. Hematological and biochemical blood parameters in dairy cows depending on the management system. Animal Science Papers and Reports 2014, 32 (4):317-325.*
11. *https://manastirifruskegore.weebly.com/klima?view=full (pristup mart 2018)*
12. *Beniston M. The 2003 heat wave in Europe: A shape of things to come? An analysis based on Swiss climatological data and model simulations. Geophysical research letters 2004, 31(2).*
13. *Black E., Blackburn M., Harrison G., Hoskins B., Methven J. Factors contributing to the summer 2003 European heatwave. Weather 2004, 59(8): 217-223.*
14. *Majkić M., Cincović M.R., Belić B., Plavša N. Indeks termalnog komfora (THI) krava u letnjim mesecima od 2005 do 2016 godine na teritoriji AP vojvodine. XXII Savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Zbornik radova, Čačk, 10-11.mart, 2017, pp. 737-74.*
15. *Angrecka S, Herbut P. Impact of barn orientation on insolation and temperature of stalls surface, Annals of Animal Science 2016, 16(3): 887-96.*
16. *Majkić M., Belić B., Cincović M.R., Plavša N. Povezanost insolacije sa ambijentalnim pokazateljima toplotnog stresa kod krava. XXX Savetovanje veteriinara Srbije, Zbornik radova Zlatibor, 12-15. Septembar 2019, pp. 117-121.*
17. *Herbut P., Angrecka S., Walczak J. Environmental parameters to assessing of heat stress in dairy cattle—a review. International journal of biometeorology 2018, 62(12):2089-2097.*
18. *Hossein-Zadeh N.G. Effects of main reproductive and health problems on the performance of dairy cows: a review. Spanish Journal of Agricultural Research 2013, (3): 718-735.*
19. *Cincović M.R., Majkić, M., Belić, B., Plavša, N., Lakić, I., Radinović, M. Thermal comfort of cows and temperature humidity index in period of 2005-2016 in Vojvodina region (Serbia). Acta Agriculturae Serbica 2017, 22(44):133-145.*
20. *Broucek J., Ryba S., Mihina S., Uhrincat M., Kisac P. Impact of thermal-humidity index on milk yield under conditions of different dairy management. Journal of Animal and Feed Sciences 2007, 16(3): 32.*
21. *Könyves T., Zlatkovic N., Memisi N., Lukac D., Puvaca N., Stojsin M., Miscevic B. Relationship of temperature-humidity index with milk production and feed intake of holstein-frisian cows in different year seasons. The Thai Journal of Veterinary Medicine 2017, 47(1):15.*
22. *Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. Journal of dairy science 2014, 97(1):471-486.*
23. *Menegassi S.R.O., Pereira G.R., Bremm C., Koetz C., Lopes F.G., Fiorentini E.C., Barcellos J.O.J. Effects of ambient air temperature, humidity, and wind speed on seminal traits in Braford and Nellore bulls at the Brazilian Pantanal. International journal of biometeorology 2016, 60(11):1787-1794.*
24. *Fidler A.P., VanDevender K. Heat stress in dairy cattle. Cooperative Extension Service, University of Arkansas, US Department of Agriculture, and county governments cooperating, 2013.*
25. *Dunn R.J., Willett K.M., Thorne P.W., Woolley E.V., Durre I., Dai A., Vose R.E. HadISD: a quality-controlled global synoptic report database for selected variables at long-term stations from 1973-2011. arXiv preprint arXiv:1210.7191, 2012.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 616.155.1
Nikolić et al., pp 90-98

MORFOMETRIJSKE OSOBINE ERITROCITA PASA I FAKTORI KOJI NA NJIH UTIČU

FACTOR AFFECTING MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF RED BLOOD CELLS IN DOG

Sandra Nikolić[a]*, Branislava Belić[a], Marko Cincović[a], Ivana Lakić[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad*
**autor za kontakt: neckovs021@gmail.com*

SAŽETAK

Cilj ovog rada je da se ispitaju referentni opsezi morfometrijskih osobina eritrocita pasa (prečnik, obim i površina) i faktori koji na njih utiču. U ovom istraživanju učestvovao je 61 pas različite starosti, rase i pola, a psi su dovedeni zbog kontrolnih ili preventivnih pregleda. Uzorci krvi su kod svih pasa uzorkovani iz cefalične vene. Napravljena su dva razmaza, jedan je bojen tehnikom po Giemsa-i, a drugi po Diff Quicku-u. Svi preparati su posmatrani pod svetlosnim mikroskopom na uvećanju 100× pod imerzijom u optimalnoj zoni razmaza. Na svakom razmazu svake pojedinačne životinje vršena je analiza po 50 eritrocita, što znači da su kod svake životinje vršena merenja 100 eritrocita u dva različita bojenja. Za svaki eritrocit merena su tri parametra. Rezultati ispitivanja pokazuju da su se vrednosti prečnika, obima i površine nalazile u sledećim rasponima: 6,76-6,86 μm za prečnik, 21,1-21,5 μm za obim i 36,1-37,1 μm^2 za površinu za interval poverenja od 95%. Analiza simetričnosti i spljoštenosti distribucije, te vizuelna anliza distribucije frekvencije i QQ dijagrama kao i rezultati Kolmogorov-Smirnovog testa ukazuju na to da vrednosti prečnika, obima i površine eritrocita zauzimaju normalnu distribuciju. Ispitivani biološki (pol, telesna kondicija, starost), patološki (prisustvo bolesti) i laboratorijski faktori (vrsta bojenja) ne pokazuju značajan uticaj ni na jedan od ispitivanih morfometrijskih parametara. Eritrociti bojeni Diff Quick i Giemsa bojom izgledaju srodno pod mikroskopom bez morfoloških devijacija izazvanih bojenjem. Kod bojenja Diff Quick-om određeni broj uzoraka (6/61, ~10%) pokazuje prosečnu površinu eritrocita koja se nalazi u ospegu 42-45 μm^2, što je iznad maskimalne vrednosti dobijene bojenjem po Giemsa metodu koja iznosi 42 μm^2, ali takva odstupanja ne utiču na vizuelizaciju eritrocita pod mikroskopom.

Ključne reči: psi, morfometrija, eritrociti, rasa, pol, starsot, bolesti, bojenje.

ABSTRACT

The main goal of this research is to determine the reference ranges of morphometric parameters of red blood cells of dogs (diameter, circumference, surface) and to determine the specific factors that affect them. This study included 61 dogs of different age, breed and gender that were subjected to preventive or control examinations. Blood samples were

collected from the cephalic vein of all dogs. Two blood smears were prepared from each dog, one using Giemsa staining technique and the other using Diff Quick staining technique. All the smears were observed under light microscopy at 100x magnification using immersion in the monolayer zone. In each blood smear of every animal in particular, 50 red blood cells were analysed, which meant that for each animal 100 red blood cells had been measured stained in two different staining methods. For each red blood cell three parameters were measured. Results of this study showed that the values of diameter, circumference and surface were in following ranges: 6,76-6,86 μm for the diameter, 21,1-21,5 μm for circumference 36,1-37,1 μm^2 for the surface at the confidence interval of 95%. Analysis of the symmetry and flattening of the distribution, visual analysis of frequency distribution and QQ diagram as well as the results of Kolmogorov-Smirnov test indicate that the values of diameter, circumference and surface of red blood cells are normally distributed. Analyzed factors in this study, biological (gender, body mass index, age), pathological (presence of illness), and laboratory (staining technique) showed no significant influence to the observed morphometric parameters. Red blood cells look similar in both staining techniques visualized under the microscope, without any morphological deviations caused by staining technique. When it comes to Diff Quick staining technique, a certain amount of samples (6/61, ~10%) showed average surface of red blood cells in the range from 42 to 45 μm^2, which is above the maximal range of the values for the surface of red blood cells obtained by Giemsa staining technique (42 μm^2), but these differences did not affect the visualization of red blood cells under the microscope.

Key words: dogs, morphometry, red blood cells, breed, gender, age, illness, staining.

UVOD

Zrela crvena krvna zrnca (eritrociti) su najzastupljenije ćelije krvotoka. Njihova glavna uloga je transport kiseonika i hranljivih materija do tkiva kao i ugljen-dioksida iz tkiva do pluća radi njegove eliminacije iz organizma. Eritrociti se razlikuju od većine drugih ćelija po tome što ne poseduju intracelularne organele kao što su jedro, mitohondrije i endoplazmatični retikulum, što im omogućava veći kapacitet za transport kiseonika i apsorpciju ugljen-dioksida (1-3). Kod pasa su crvena krvna zrnca oblika bikonkavnog diska sa dobro izraženim centralnim prosvetljenjem koje obično obuhvata jednu trećinu do polovine prečnika ćelije. Bikonkavni oblik eritrocita je optimalan zbog maksimalne moguće deformacije ćelija, brzih promena i preživljavanja eritrocita tokom njihovog prolaska kroz mikrokapilarni sistem. Sam prečnik psećih eritrocita iznosi 6-8μm i veći je u poređenju sa prečnikom eritrocita poreklom od drugih vrsta domaćih životinja (1). Fetalni eritrociti su veći u odnosu na one kod odraslih pasa, njihov prečnik se smanjuje tokom prvih 9-12 nedelja života usled zamene fetalnih eritrocita zrelim eritrocitima (2). Životni vek psećih eritrocita je 110-115 dana.

Ukupan broj eritrocita kod pasa je između 5.5x10^6/μl i 8.5 x10^6/μl (1), u zavisnosti od pola, uzrasta, nadmorske visine i graviditeta. Muške jedinke imaju veći ukupan broj crvenih krvnih zrnaca u odnosu na ženske jedinke, mlađi psi imaju veći broj eritrocita od odraslih, psi koji žive na većim nadmorskim visinama imaju veći ukupan broj eritrocita, a broj eritrocita značajno raste i tokom gestacije (2). Pomoću morfoloških karakteristika eritrocita, pregledom dobro pripremljenog krvnog razmaza, često se mogu utvrditi abnormalnosti u veličini eritrocita i koncentraciji hemoglobina, kao i prisustvo abnormalnih ćelijskih oblika i inkluzija koje ne mogu detektovati ni najsavremeniji hematološki aparati. Faktori koji dovode do promene oblika i veličine eritrocita su brojni, a u njih se mogu ubrojati biološki (pol, telesna kondicija, starost), patološki (prisustvo bolesti) i laboratorijski

faktori (vrsta bojenja, artefakti, greške u pripremi krvnog razmaza, antikoagulansi) (4). U ovom radu ispitani su uticaji starosti, pola, telesne kondicije, prisustva bolesti i vrste bojenja na morfometrijske osobine eritrocita odnosno prečnik,obim i površinu eritrocita.

Morfometrijska ispitivanja omogućavaju numeričku ocenu i najsuptilnijih promena nedostupnih vizuelnom pregledu (5). Tehnički je jednostavna i jeftina metoda a sistem za slikovnu analizu sastoji se od mikroskopa, monitora, kamere visoke rezolucije, računara i softvera za analizu slike.

Cilj ovog rada je da se ispitaju referentni opsezi morfometrijskih osobina eritrocita (prečnik, obim i površina) i faktori koji na njih utiču.

MATERIJAL I METODE

Za potrebe ovog istraživanja, korišćeni su uzorci krvi od 61 vlasničkog psa, različite starosti, rase i pola, koji su dovedeni u ambulantu zbog kontrolnih ili preventivnih pregleda. Svim psima je urađena kompletna krvna slika i za istraživanje su u obzir uzeti samo psi kod kojih su sve vrednosti parametara krvne slike bile u granicama referentnih vrednosti.

Uzorci krvi su kod svih pasa uzorkovani iz cefalične vene. Napravljena su dva razmaza, jedan je bojen tehnikom po Giemsa-i, a drugi tehnikom po Diff Quicku-u. Korišćene su boje GM-OT-100 i BD-K-100 (Biognost). Ukupan broj analiziranih uzoraka je 122.

Svi preparati su posmatrani pod svetlosnim mikroskopom na uvećanju 100× pod imerzijom u optimalnoj zoni razmaza. Na svakom razmazu svake pojedinačne životinje vršena je analiza po 50 eritrocita, što znači da su kod svake životinje vršena merenja 100 eritrocita u dva različita bojenja. Za svaki eritrocit merena su tri parametra: prečnik, obim i površina. Korišćen je mikroskop marke Olympus CX31, sa kamerom OPTIKAM model 4083.B3 i softverom Optika IsView. Morfometrijska studija na crvenim krvnim zrncima je izvedena postupajući po smernicama i instrukcijama proizvođača softvera.

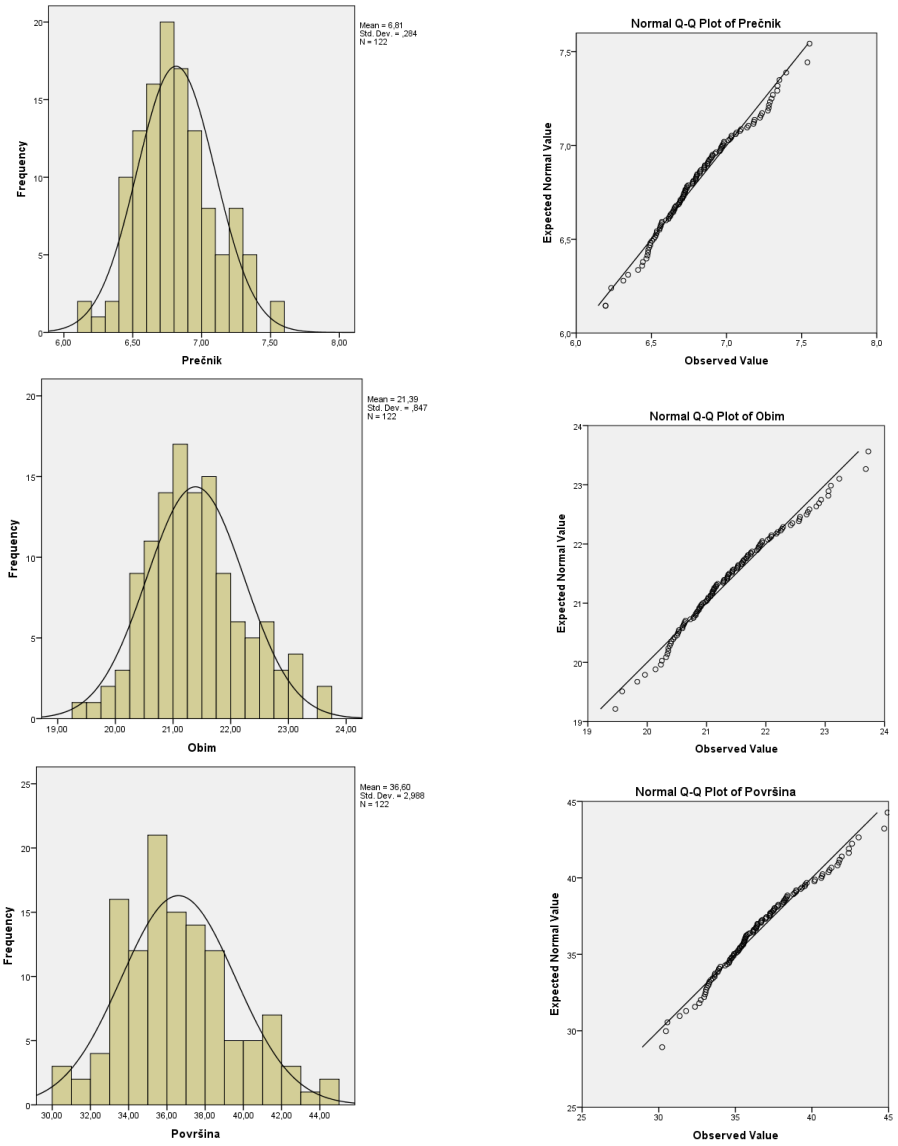
Statistička obrada podrazumevala je izračunavanje mera centralne tendencije i varijacije vrednosti ispitivanih parametara. Ispitana je distribucija frekvencije vrednosti tri ispitivana morfometrijska parametra i predstavljeni su QQ dijagrami u cilju provere normalnosti distribucije frekvencije. Uticaj starosti, pola, telesne kondicije, prisustva bolesti i vrste bojenja određen je t-testom ili ANOVA analizom sa naknadnim LSD testom. Korišćen je statistički paket SPSS (USA).

REZULTATI

Rezultati ispitivanja pokazuju da su se vrednosti prečnika, obima i površine nalazile u sledećem opsegu za interval poverenja od 95%: 6,76-6,86 μm za prečnik, 21,1-21,5 μm za obim i 36,1-37,1 μm^2 za površinu (Tabela 1). Analiza simetričnosti i spljoštenosti distribucije, te vizuelna analiza distribucije frekvencije i QQ dijagrama kao i rezultati Kolmogorov-Smirnovog testa ukazuju na to da vrednosti prečnika, obima i površine eritrocita zauzimaju normalnu distribuciju (Grafikon 1-6). Ispitivani biološki (pol, telesna kondicija, starost), patološki (prisustvo bolesti) i laboratorijski faktori (vrsta bojenja) ne pokazuju značajan uticaj ni na jedan od ispitivanih morfometrijskih parametara (Tabela 2). Eritrociti bojeni Diff Quick i Giemsa bojom izgledaju srodno pod mikroskopom (Slika 1-6) bez morfoloških devijacija izazvanih bojenjem. Kod bojenja Diff Quick-om određeni broj uzoraka (6/61, ~10%) pokazuje prosečnu površinu eritrocita koja se nalazi u ospegu 42-45 μm^2, što je iznad maksimalne vrednosti dobijene bojenjem po Giemsa koja iznosi 42 μm^2 (Grafikon 7), ali takva odstupanja ne utiču na vizuelizaciju eritrocita pod mikroskopom.

Tabela 1: Deskriptivna statistika morfometrijskih osobina eritrocita pasa

	95%CI	Min	Max	$\bar{X}$	SD	Varijansa	Skewness		Kurtosis	
Prečnik µm	6,76-6,86	6,19	7,55	6,81	0,29	0,080	0,363	0,22	-0,149	0,44
Obim µm	21,2-21,5	19,46	23,73	21,39	0,85	0,717	0,465	0,22	0,062	0,44
Površina μm^2	36,1-37,1	30,22	44,93	36,6	2,99	8,925	0,479	0,22	0,075	0,44

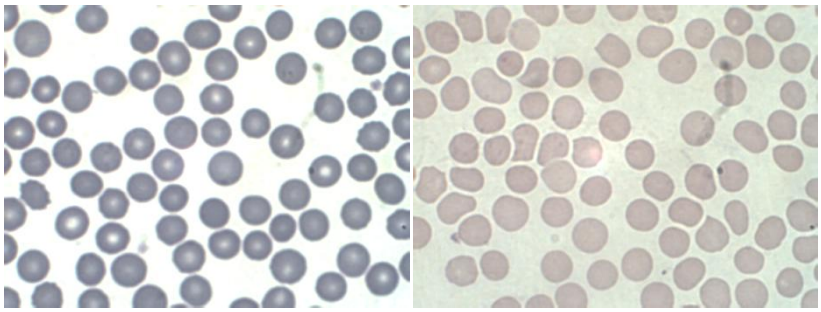


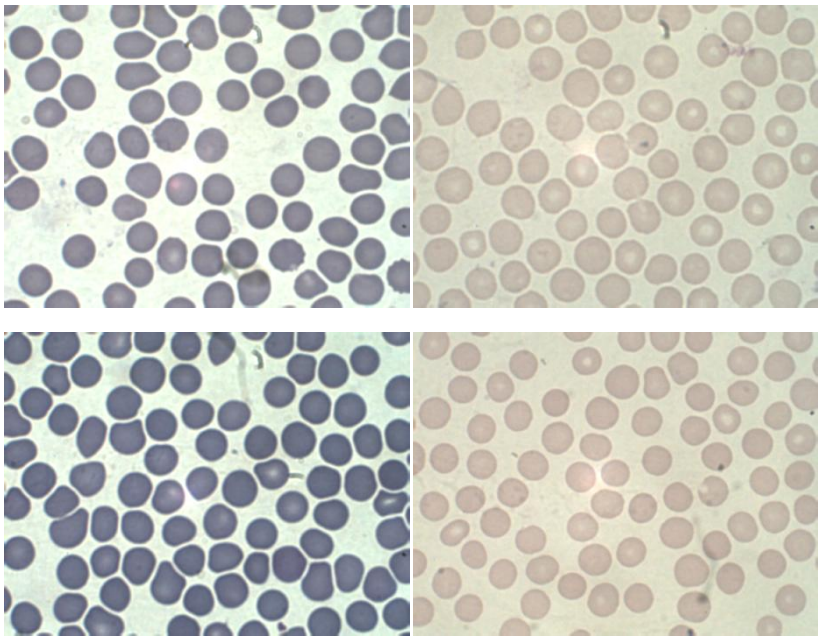
Grafikoni 1-6: Distribucija frekvencije i QQ plot odstupanja vrednosti od normalne distribucije frekvencije za tri ispitana morfometrijska parametra

Tabela 2 : Ispitivanje uticaja starosti, pola, telesne kondicije, zdravlja i vrste bojenja na morfometrijske osobine eritrocita

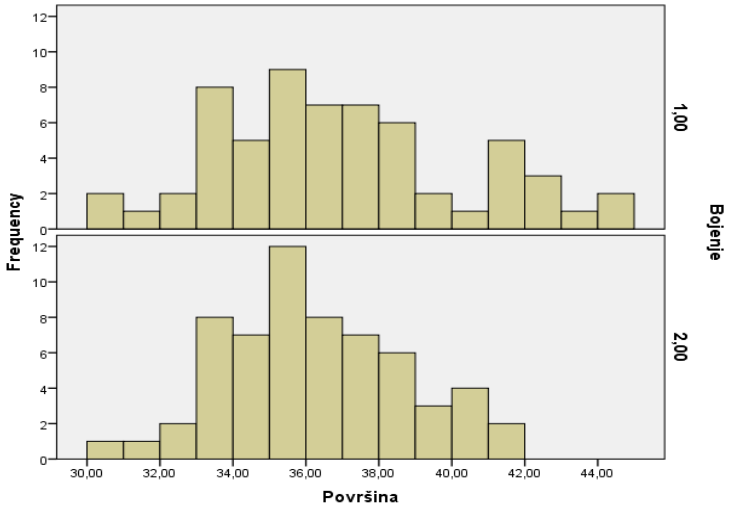
			X̄±SD			Statistička značajnost		
			Površina	Obim	Prečnik	Površina	Obim	Prečnik
Starost	0-5 godina	X̄	36,9283	21,4622	6,846	NS	NS	NS
		SD	3,01075	0,86501	0,28505			
	5,1-10 godina	X̄	36,5434	21,375	6,8103			
		SD	2,9998	0,86719	0,28555			
	Preko 10 godina	X̄	35,5741	21,1594	6,7134			
		SD	2,78343	0,74013	0,26471			
Pol	Muški	X̄	36,202	21,2954	6,7772	NS	NS	NS
		SD	2,91862	0,83268	0,27979			
	Ženski	X̄	37,1708	21,522	6,8676			
		SD	3,02198	0,8576	0,28353			
Telesna kondicija	3,5	X̄	31,4188	20,4646	6,5143	NS	NS	NS
		SD	1,33898	0,45934	0,14581			
	4	X̄	37,5624	21,6671	6,897			
		SD	3,9999	1,17603	0,37425			
	4,5	X̄	36,8709	21,4651	6,8325			
		SD	2,92246	0,85488	0,27227			
	5	X̄	37,1798	21,5617	6,8581			
		SD	2,77733	0,8024	0,27958			
	6	X̄	36,2957	21,2537	6,7963			
		SD	3,02236	0,83816	0,29372			
	7	X̄	34,7298	20,8593	6,6388			
		SD	1,48068	0,44399	0,14145			
	8,9	X̄	35,3962	21,0559	6,7018			
		SD	0,24155	0,05954	0,01895			
Bolest	Da	X̄	37,2909	21,6018	6,8758	NS	NS	NS
		SD	2,77243	0,80004	0,25502			
	Ne	X̄	36,353	21,3123	6,7924			
		SD	3,03711	0,85435	0,29141			
Bojenje	Diff Quick	X̄	36,9943	21,5062	6,8382	NS	NS	NS
		SD	3,39204	0,98133	0,32267			
	Giemsa	X̄	36,2038	21,2703	6,7903			
		SD	2,48519	0,6746	0,23879			

Slika 1: Analizirani krvni razmazi Diff Quick (levo) i Gimza (desno) bojenje.





Grafikon 7: Distribucija frekvencije vrednosti površine eritrocita u funkciji bojenja, Diff Quick (1) i Gimza (2).



DISKUSIJA

Morfometrija predstavlja kvantitativni opis geometrijskih struktura u svim dimenzijama. Primenjuje se u različitim poljima dijagnostike i omogućava numeričku ocenu i najsuptilnijih promena (5). Veoma je jednostavna za izvođenje a razvojem savremene tehnologije, usavršeni su softveri koji mnogo brže i preciznije utvrđuju morfometrijske karakteristike crvenih krvnih ćelija merenjem prečnika, obima i površine ćelije, nisu skupi i u značajnoj meri ograničavaju ljudski faktor (6).

Na vrednosti merenja eritrocitnih parametara utiču faktori poreklom od same jedinke (vrsta, rasa, starost, regenerativni odgovor, metabolički poremećaji, pre svega gvožđa, masti i elektrolita), zatim faktori poreklom od patoloških procesa u organizmu kao što su oksidativne povrede, imunološki posredovana oštećenja, mehaničke

fragmentacije, sepsa, toksini i na kraju preanalitički faktori u koje spadaju greške prilikom uzorkovanja krvi, upotreba antikoagulanata, greške pri pravljenju i sušenju krvnih razmaza, neodgovarajuća temperatura, vlažnost (4).

Tokom našeg istraživanja, usredsredili smo se na uticaj starosti, pola i telesne kondicije na morfometrijske parametre eritrocita pasa kada su u pitanju biološki faktori. Od patoloških faktora uključili smo uticaj bolesti na ove parametre, a od laboratorijskih uticaj dve različite tehnike bojenja na morfometrijske osobine crvenih krvnih zrnaca pasa. Rezultati studije ukazuju na to da nijedan od ovih ispitivanih faktora nema statistički značajan uticaj na vrednosti prečnika, obima i površine eritrocita kod ispitivanih jedinki. Naši rezultati se poklapaju sa rezultatima autora Adili et al.,2016, u smislu zaključka da starost i pol nemaju uticaj na morfometrijske osobenosti eritrocita, dok dalja analiza pokazuje da su vrednosti prečnika, obima i površine eritrocita pasa imale niže vrednosti u našem istraživanju u odnosu na istraživanja pomenutog autora. Prečnik eritrocita u našem istraživanju je imao vrednosti 6,76-6,86 μm spram 7.17±0.30 μm (6.30–7.77) kod lokalnih Slugi pasa, (7), dok su naši nalazi bili nešto bliži kada je u pitanju prečnik eritrocita kod nemačkih ovčara 6.90±0.27 μm (6.29–7.42) opisan kod istog autora. Vrednosti obima u našem istraživanju bile su od 21,1-21,5 μm što je dosta niže u odnosu na rezultate dobijene za Slugi hrtove 25.97±1.38 (20.63–28.35) i nemačke ovčare 25.77±1.12 (23.48–27.82), a takođe su i vrednosti dobijene merenjem površine eritrocita, 36,1-37,1 μm^2 u našem istraživanju, nešto manje u odnosu na vrednosti koje je u svojim istraživanjima utvrdio Adili et al.,2017., 39.52±3.92 (25.55–47.05) kod Slugi rase i 39.10±3.52 (31.33–45.45) kod nemačkih ovčara.

U nedostatku daljih istraživanja na psima, kako bismo uvideli i ograničenja naše studije, razmatrali smo i rezultate autora koji su svoja istraživanja bazirali na morfometrijskim parametrima crvenih krvnih zrnaca konja, kunića i goveda. U ovim radovima zaključak je da se morfometrijskom analizom prečnika, obima i površine crvenih krvnih zrnaca može sa velikom preciznošću utvrditi vrsta životinje kojoj eritrociti pripadaju (2). Takođe, kada su u pitanju konji, nije utvrđena statistički značajna razlika u morfometrijskim parametrima eritrocita, prečniku, obimu i površini u odnosu na pol i uzrast. Jedino je obim eritrocita bio značajno veći kod odraslih muških jedinki arapskih punokrvnih konja u odnosu na mlade jedinke, ali gledano sa aspekta celokupnog ispitivanja koje je sprovedeno na arapskim i engleskim punokrvnim konjima, uopšteni je zaključak da nema značajne razlike u obimu eritrocita u odnosu na pol i uzrast. Pri analizi eritrocita novozelandskih belih kunića, došlo se do zaključka da su morfometrijski parametri veći kod ženskih jedinki u odnosu na muške (8). U istraživanju sprovedenim na govedima, utvrđeno je da uzrast i rasa imaju uticaj na morfometrijske parametre eritrocita kod ženskih goveda dve ispitivane rase (5). Kada se procenjuje uticaj rase na morfometrijske osobine eritrocita pasa, treba imati u vidu da pudle imaju konstitucionalnu makrocitozu, dok se kod nekih japanskih rasa kao što su Akita inu i Šiba inu javlja mikrocitoza (2,9). Uzimajući u obzir ove podatke, nameće se zaključak da bi trebalo ispitati morfometrijske parametre za svaku rasu pasa posebno, kako bi se bolje utvrdilo da li među njima postoje značajne razlike u ovim parametrima. Kada je u pitanju uticaj uzrasta na vrednosti prečnika, obima i površine crvenih krvnih zrnaca, trebalo bi dopuniti istraživanja jer su fetalni eritrociti veći u odnosu na one kod odraslih pasa i njihov prečnik se smanjuje tokom prvih 9-12 nedelja života (2). U okvirima naših istraživanja, našla su se samo 2 psa starosti od 3 meseca i morfometrijski parametri njihovih eritrocita bili su među najvećima, sa vrednostima za površinu 40.16 dobijene bojenjem po Diff Quick-u (DQ) i 41.75 bojenjem po Giemsa-i (G) kod prvog psa i 41.81 (DQ) i 40.69 (G) kod drugog psa. Kada su u pitanju vrednosti obima, one su se

kretale u sledećim intervalima: za prvog psa 22.42 (DQ) i 20.86 (G), dok su za drugo štene vrednosti bile 22.89 (DQ) i 22.57 (G). Vrednosti prečnika kod oba mlada psa bile su skoro uniformne a iznosile su kod prvog psa 7.14 (DQ) i 7.28 (G), dok su kod drugog iznosile 7.28 (DQ) i 7.19 (G). U narednim istraživanjima, trebalo bi uvrstiti više uzoraka krvi od pasa mlađih od 3 meseca, da bi se dodatno utvrdila razlika u morfometrijskim osobinama mlađih jedinki u odnosu na odrasle.

Ovim istraživanjem utvrđeno je da indeks telesne kondicije nema značajan uticaj na vrednosti prečnika, obima i površine eritrocita kod ispitivanih jedinki. Pri pregledu literature, nismo naišli na podatke u vezi uticaja telesne kondicije na morfometrijske parametre eritrocita ni kod jedne vrste, kao i uticaja različitih tehnika bojenja na iste, tako da smo ostali uskraćeni za poređenje rezultata. Kada je u pitanju tehnika bojenja, rezultati prethodnog istraživanja pokazali su da nema odstupanja u vrednostima merenja ovih parametara u dva različita tipa bojenja koja bi bila značajna sa aspekta svakodnevnog kliničkog rada ((DQ:G): površina 36,994:36,2038; obim 21,5062:21,2703 i prečnik 6,8382:6,7903),(10). Eritrociti bojeni Diff Quick i Giemsa bojom izgledaju srodno pod mikroskopom bez morfoloških devijacija izazvanih bojenjem. Kod bojenja Diff Quick-om određeni broj uzoraka (6/61, ~10%) pokazuje prosečnu površinu eritrocita koja se nalazi u ospegu 42-45 μm^2, što je iznad maskimalne vrednosti dobijene bojenjem po Giemsa metodi koja iznosi 42 μm^2, ali takva odstupanja ne utiču na vizuelizaciju eritrocita pod mikroskopom.

Bolest, kao faktor takođe nije pokazala značajan uticaj na morfometrijske osobine eritrocita u ovom istraživanju. Studijama koje su sprovedene na ovcama utvrđeno je da bi morfometrija eritrocita mogla da spreči potencijalne konfuzije prilikom istraživanja i interpretacije anemičnih sindroma, posebno u vezi normocitne, makrocitne i mikrocitne anemije (11).

U svojim istraživanjima Jeongho et al., 2015 ističe da osmotska koncentracija i porast koncentracije intracelularnog kalcijuma dovodi do promena u morfometrijskim parametrima eritrocita, pre svega obliku i površini. Takođe isti autor navodi da i Diabetes mellitus dovodi do promena konstituenata membrane eritrocita i njegove unutrašnjosti i promena u deformabilnosti ćelije, što nekad rezultira i promenama morfometrijskih karakteristika(12). U navodima istraživača (4), od bolesnih stanja koja utiču na vrednosti parametara eritrocita ističu se sepsa, delovanje toksina, oksidativne povrede, imunološki posredovana oštećenja. U humanoj medicini istraživanja u kojima su učestvovali pacijenti sa bolestima koronarnih arterija utvrđeno je da su morfometrijske osobine eritrocita ovih pacijenata različite u odnosu na ljude bez ovakvih zdravstvenih tegoba (13), kao i da su ove vrednosti niže kod talasemičnih pacijenata u odnosu na zdrave (14). U našem istraživanju nismo imali pasa sa sličnim zdravstvenim problemima, što bi mogao biti razlog dobijenih rezultata u kojima se vidi da uticaj bolesti nije od značaja za morfometrijske osobine eritrocita. To nam ukazuje da bi neka naredna istraživanja trebalo usmeriti ka uticajima određene bolesti na morfometrijske parametre eritrocita.

ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da ispitivani biološki, patološki i laboratorijski faktori nemaju značajan uticaj na morfometrijske osobine eritrocita. Neophodno je obaviti nova istraživanja, koja bi obuhvatila najmlađu kategoriju pasa, zatim istraživanja za svaku rasu ponaosob, kao i istraživanja za različite bolesti kako bi se još preciznije utvrdila morfometrijska odstupanja parametara crvenih krvnih zrnaca pod uticajem ispitivanih faktora. Morfometrijske promene eritrocitnih pokazatelja su utvrđene kod određenih ljudskih, ali i psećih bolesti, ali za sad o tome ne postoji dovoljno podataka u veterinarskoj literaturi. S tim u vezi, javlja se potreba za

novim istraživanjima na ovu temu, kako bi morfometrijska ispitivanja dobila značajnije mesto u dijagnostici oboljenja životinja u budućnosti.

ZAHVALNOST

Rezultat je deo projekta finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R.Srbije.

LITERATURA

1. *Rizzi T.E., Meinkoth J.H. and.Clinkenbeard K.D. Normal Hematology of the Dog. Schalm's Veterinary Hematology, 2010, pp 799-810.*
2. *Adili N., Melizi M., Belabbas H. Species Determination Using the Red Blood Cells Morphometry in Domestic Animals. Vet World 2016, 9(9):960-963.*
3. *Jaferzadeh K., MinWoo S., Nam Gon K., InKyu M. Quantitative analysis of threedimensional morphology and membrane dynamics of red blood cells during temperature elevation. Scientific Reports 2019, 9:14062.*
4. *Gavazza A., Ricci M., Brettoni M., Gugliuci B., Pasquini A., Rispoli D., Bernabo N., Lubas G. Retrospective and Prospective Investigations about "Quatrefoil" Erythrocytes in Canine Blood Smears. Veterinary Medicine International 2014, Article ID 409573.*
5. *Dash I., Mohanty P.K. Morphological Features and Influence of Age and Breed on the Morphometry of Red Blood Cells of Female Cattle. IJSR 2015, 4(2).*
6. *Silva I., Thananjayan K., Dissanayake D.R.A., Fernando W.C.R. Murugananthan M. Relationship of Mean Corpuscular Volume with Diametar and Surface Area of Canine Erythrocytes. S L Vet J. 2017, 64(2):13-16.*
7. *Adili N., Melizi M., Belabbas H., Bala A., Merad S., Bouali F., Bennoune O. Morphometric study of red blood cells in Sloughi and German shepherd dogs. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine 2017, 20(2):125-30.*
8. *Poljičak-Milas N., Kardum-Skelin I., Vuđan M., Marenjak T. S., Ballarin-Perharić A., Milas Z. Blood Cell Count Analyses and Erythrocyte Morphometry in New Zealand White Rabbits. Vet. Arhiv 2009, 79(6):561-571.*
9. *Boyd S.P., Best M.P. Persistent Reticulocytosis in a Case of Poodle Macrocytosis. Vet Clin Pathol.* 2018, *47(3):400-406*
10. *Nikolić S., Davidov I., Belić B., Cincović M., Lakić I. Morfometrija eritrocita pasa bojenih DIFF-QUICK i GIEMSA bojenjem. 30. Savetovanje veterinara Srbije. Zlatibor septembar 12-15, 2019.*
11. *Žaja Ž.I., Vince S., Poljicak Milas N., Lobpreis Albin R.I., Špoljaric B., Vugrovečki Shek A., Milinković-Tur S., Šimpraga M., Pajurin L., Mikuš T., Vlahović K., Popović M., Špoljarić D. ANew Method of Assessing Sheep Red Blood Cell Types from Their Morphology. Animals 2019, 9(12).*
12. *Kim J., Lee H., Shin S. Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review. Journal of Cellular Biotechnology. 2015, 1(1):63-79.*
13. *Revin V.V., Ushakova A.A., Gromova V.N. , Balykova A.L., Revina S.E., Stolyarova V.V., Stolbova A.T., Solomadin N.I, Tychkov Yu.A, Revina V.N., Imarova G.O. Study of Erythrocyte Indices, Erythrocyte Morphometric Indicators, and Oxygen-Binding Properties of Hemoglobin Hematoporphyrin Patients with Cardiovascular Diseases. Advances in Hematology, 2017.*
14. *Yang-Hsien L., Shin-Shyang H., Shang-Ju W., Kung-Bin S. Morphometric analysis of erythrocytes from patients with thalassemia using tomographic diffractive microscopy. Journal of Biomedical Optics 2017, 22(11).*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 639.31
Novakov et al., pp 99-104

DISTRIBUCIJA I POJAVLJIVANJE PLEROCERKOIDA *LIGULA INTESTINALIS* KOD RIBA IZ JEZERA MEĐEŠ

DISTRIBUTION AND OCCURRENCE OF LIGULA INTESTINALIS PLEROCERCOIDS IN THE FISHES FROM MEĐEŠ LAKE

Nikolina Novakov[a*], Ivana Davidov[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000, Novi Sad*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000, Novi Sad*
**kontakt osoba: e-mail: nikolina@polj.uns.ac.rs; tel. +381214853465*

SAŽETAK

Uzročnik liguloze je plerocerkoid *Ligula intestinalis* iz familije Ligulidae. Enzotska područja liguloze najčešće podrazumevaju stajaće vode, kao što su rezervoari vode, ribnjaci i jezera. Kompleksni životni ciklus ovog parazita odvija se preko tri domaćina, i to: cepopoda kao prvog prelaznog domaćina, šaranske ribe kao drugog prelaznog domaćina i avijarnog predatora kao pravog domaćina. Osnovni cilj rada je da se utvrdi prisustvo *Ligula intestinalis* na otvorenim vodama (jezero Međeš), da se utvrdi kod kojih vrsta riba se javlja, te da se ustanovi prevalenca, kliničke promene i ekonomske štete koje nastaju kao posledica delovanja parazita. Istraživanje je sprovedeno na ukupno 300 riba različitih vrsta (bodorka, crvenperka, babuška, krupatica, tostolobik i amur) i starosnih kategorija od jula do novembra meseca 2016. Identifikacija parazita urađena je nakon konzerviranja i prosvetljivanja u 70% alkoholu i mlečnoj kiselini. *Ligula intestinalis* je utvrđena samo kod bodorke i prevalenca je iznosila 47,7 %, dok je intentitet infekcije bio 2,2 parazita po ribi. Prevalenca (60%) i broj infestiranih jedinki (24) bio veći kod manjih riba tj. onih čija je dužina kretala do 25 cm, dok je kod riba preko 25 cm prevalenca iznosila svega 28%. Prosečna dužina parazita bila je 21,5 cm, minimalna dužina iznosila je 7 cm, a maksimalna 35 cm. Najveća prevalenca je bila tokom septembra i iznosila je 69% dok je najniža bila tokom avgusta i novembra 38,5%. Najveći intenzitet infestacije bio je takođe tokom septembra 2,4 a najmanji u julu kada je nađeno prosečno 1,8 plerocerkoida *Ligula intestinalis* po zaraženoj ribi. Mere kontrole liguloze uključuju hvatanje inficiranih riba, melioracijske mere, kontrolu ptica u okolini ribnjaka koje jedu ribu i uzgoj riba koje su rezistentne na ligulozu.

Ključne reči: *Ligula intestinalis*, plerocerkoid, ciprinide, otvorene vode.

ABSTRACT

The causative agent of ligulosis is the plerocercoid Ligula intestinalis belonging the Ligulidae family. Ligulosis occurs most often in stagnant waters, predominantly in reservoirs, ponds and lakes. The complex life cycle of the parasite requises three hosts: a copepod as the first intermediate host, a cyprinid fish as the second intermediate host and an avian predator as the final host. The main goal of the work is to determine the presence of Ligula intestinalis in natural waters (Lake Međeš), in which fish species disease appears, and to identify prevalence, intensity of infestation, clinical changes and economic damage resulting from the

parasite activity. The research was carried out on 300 fish of different species (roach, common rudd, crucian carp, silver bream, grass carp and bighead carp) and age categories from July to November 2016. Identification of the parasite was done after preservation and enlightenment in 70% ethanol and lactic acid. Ligula intestinalis was determined only in roach and the prevalence was 47.7%, while the intentsity of the infestation was 2.2 parasites per fish. The prevalence (60%) and the number of infected individuals (24) was higher in smaller fish, i.e. those whose length ranged up to 25 cm, while in fish over 25 cm the prevalence was only 28%. The average length of the parasite was 21.5 cm, the minimum length was 7 cm, and the maximum length was 35 cm. The highest prevalence was in September (69%), while the lowest was 38.5% during the August and November. The highest infestation intensity was 2.4, also in September and the lowest was in July when 1.8 of Ligula intestinalis per infected fish was found. Control measures include control of birds and breeding of fish that are resistant to ligulosis.

Key words: Ligula intestinalis, plerocercoid, cyprinid fishes, natural waters.

UVOD

Liguloza je obolenje koje se javlja kod mnogih vrsta šaranskih riba najčešće kod deverike, crvenperke, bodorke i dr. (1). U ribnjacima mogu oboleti linjak, beli amur i beli tolstolobik. U Turskoj je linjak jedan od najčešćih domaćina za parazite iz roda *Ligula* (2,3). Plerocerkoid *Ligula intestinalis* koji se nalazi u ribama je veliki helmint koji dostiže dužinu od 5 do120 cm i širinu od 0,5 do 1,7 cm (4). Pravi domaćini su ptice, a prelazni cepopode i ribe. Iz jaja koja zajedno sa izmetom luče ptice oslobađa se koracidijum. Stopa embrionalnog razvoja (*coracidium*) zavisi od temperature vode. Na temperaturi 21-25°C koracidijum se razvija za 5-7 dana, na 16-19°C za 8-10 dana, a na 10-12°C za 12-15 dana (5). Koracidijum je prekriven cilijama i ima tri para embrionalnih kuka. Ribojede ptice se kontaminiraju kada jedu ribu i u njihovim crevima plerocerkoidi za 3-5 dana izrastaju u zrele pantljičare koje luče jaja (6). Dospevanjem u telesne šupljine ribe, plerocerkoidi rastu i dostižu velike dimenzije dužine 60-80 cm. Oni vrše kompresiju unutrašnjih organa i narušavaju njihovu funkciju. Zbog povećanog pritiska na jetru, slezinu, gonade i ostale organe oni postepeno atrofiraju. Dolazi do usporavanja metaboličkih procesa u telu. Kontaminirana riba prestaje da jede i slabi. Zbog atrofije gonada reprodukcija staje (7). Sve ovo u velikoj meri smanjuje proizvodnju ribe i reprodukciju ribnjaka. Zajedno sa mehaničkim delovanjem na unutrašnje organe helminti izazivaju i toksične efekte usled proizvoda metabolizma i toksina koje luče prisutni paraziti (8). Hemoglobin je smanjen za 20-25% u odnosu na normalne vrednosti, 2-3 ili više puta povećanje broja polimorfonuklearnihćelija i neutrofili su povećani za 2-3 puta (8). U jednoj ribi može biti nekoliko paraziza. Bolesne ribe imaju povećan trbuh, rastu sporo i vremenom mršave. Može doći i do perforacije trbušnog zida usled nakupljanje velikog broja parazita (6,9). Osnova eradikacije liguloze je presecanje razvojnog ciklusa, što je veoma teško postići u otvorenim vodama (1).

Osnovni cilj rada je da se utvrdi prisustvo liguloze na jezeru Međeš, da se utvrdi kod kojih vrsta riba se javlja, te da se ustanovi prevalenca, kliničke promene i ekonomske štete koje nastaju kao posledica delovanja parazita.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno tokom 2016. Uzorkovanja su vršena mrežom i pregledano je ukupno 300 riba različitih vrsta i starosnih kategorija od jula do novembra meseca. Klinički pregledi vršio se na jezeru Međeš i u laboratoriji Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu.

Predmet istraživanja je bilo nekoliko vrsta riba familije *Cyprinidae* poreklom iz otvorenih voda, i to: bodorka, crvenperka, babuška, krupatica, tostolobik i amur. Za postavljanje potvrdne dijagnoze bilo je neophodno uraditi identifikaciju uzročnika u cilju da se ustanovi kod kojih vrsta riba se javlja, te da se ustanovi prevalenca, kliničke promene i ekonomske štete koje nastaju kao posledica delovanja parazita. Nakon makroskopskog pregleda riba i nalaženja plerocerkoida parazita *Ligula intestinalis*u trbušnoj duplji, vršilo se njihovo konzerviranje u 70% alkoholu. Zatim su se paraziti prosvetljavali u mlečnoj kiselini i identifikovali po ključu Bauer (10). Istraživanje se vršilo na jezeru Međeš, koje se nalazi na Fruškoj Gori. Mikroskopski pregled uzoraka i slikanje obavilo se u laboratorijama Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu.

REZULTATI

Liguloza je dijagnostikovana na fruškogorskom jezeru Međeš tokom 2016. godine kod bodorke (*Rutilus rutilus*). Kod ostalih ribljih vrsta ispitivanih u jezeru Međeš nije ustanovljeno prisutvo plerocerkoida *Ligula intestinalis.* Dijagnoza je potvrđena patoanatomskim pregledom ribe i mikroskopskim pregledom i identifikacijom plerocerkoida *Ligula intestinalis.* Prevalenca liguloze kod ispitivanih ribljih vrsta data je u tabeli 1. Kod riba koje su bile infestirane klinički se mogao uočiti povećan abdomen kao posledica prisustva plerocerkoida *Ligula intestinalis* u trbušnoj duplji (Slika 1). Na slici 1 prikazan je i izgled plerocerkoida koji su izvađeni iz infestiranih riba.U tabeli 2 prikazana je prevalenca i intenzitet infestacije po mesecima u kojima je vršeno istraživinje a obuhvaćen je period od jula do novembra. Pored srednjih vrednosti za dužinu parazita i intenzitet infestacije date su minimalne i maksimalne vrednosti kao i standardna devijacija (SD). Tokom istraživanja praćena je i prevalenca i broj infestiranih jedinki u odnosu na dužinu ribe, pri čemu su posebno pregledane ribe dužine do 25 cm i preko 25 cm (Tabela 3).

Tabela 1. Prevalenca liguloze kod ispitivanih ribljih vrsta

Vrsta ribe	Broj pregledanih riba	Broj riba kod kojih je utvrđeno prisustvo *Ligula intestinalis*	Prevalenca (%)
Bodorka (*Rutilus rutilus*)	65	31	47,7
Crvenperka (*Scardinius erythrophthalmus*)	34	0	0
Babuška (*Carassius gibelio*)	82	0	0
Tolstolobik (*Aristichthys nobilis*)	76	0	0
Belu amur (*Ctenopharyngodon idella*)	43	0	0
Ukupno	300	31	47,7

Slika 1. Bodorka *(Rutilus rutilus),* sa plerocerkoidima *Ligula intestinalis*

Tabela 2. Prevalenca i intenzitet liguloze kod bodorke od jula do novembra

Mesec	Broj infestiranih riba	Broj neinfestiranih riba	Prevalenca (%)	Intenzitet infestacije (min-max; ± SD)	Dužina parazita (cm) (min-max; ± SD)
Jul	6	6	50	1,8 (1-3±0,9)	15,3 (7-22±5,4)
Avgust	5	8	38,5	2,2 (1-4±1,3)	24,3 (12-30±5,7)
Septembar	9	4	69	2,4 (1-4±1,2)	20,9 (12-35±7,7)
Oktobar	6	8	42,9	2,1 (1-4±1,2)	22,9 (11-29±6,2)
Novembar	5	8	38,5	2,2 (1-3±0,8)	24,7 (12-32±6,9)
Ukupno	31	34	47,7	2,2 (1-4±1,1)	21,5 (7-35±7,2)

Tabela 3. Prevalenca liguloze kod bodorki različite dužine

Dužina ribe (cm)	Ukupno pregledano	Broj infestiranih riba	Broj neinfestiranih riba	Prevalenca (%)
0-25	40	24	16	60
25-40	25	7	18	28
Ukupno	65	31	34	47,7

DISKUSIJA

Ligula intestinalis je rasprostranjen parzit koji se javlja kod mnogih vrsta šaranskih riba u kontinentalnoj Evropi i Severnoj Americi (3). Ovaj parazit izolovan je i kod neciprinidne ribe brkice (*Barbatuala barbatula*) (11). Zbog povećanog pritiska na jetru, slezinu, gonade i ostale organe oni postepeno atrofiraju. Dolazi do usporavanja metaboličkih procesa u telu. Kontaminirana riba prestaje da jede i slabi. Zbog atrofije gonada reprodukcija staje (12). Sve ovo u velikoj meri smanjuje proizvodnju ribe i reprodukciju ribnjaka. Plerocerkoidi *Ligula intestinalis* mogu igrati ulogu u regulaciji populacione dinamike kod određenih vrsta kod kojih se češće javljaju, prvenstveno inhibicijom razvoja gonada (13).

U ovoj studiji sprovedenoj na jezeru Međeš prevalenca kod bodorke kod koje je jedino i zabeleženo prisustvo *Ligula intestinalis* iznosila je 47,7%. Treba istaći da je prevalenca (60%) i broj infestiranih jedinki (24) bio veći kod manjih riba tj. onih čija je dužina kretala do 25 cm, dok je kod riba preko 25 cm prevalenca iznosila svega 28%, tj. bilo je pozitivno ukupno svega 7 riba. Ovo ukazuje da se prevalenca smanjuje sa veličinom ribe verovatno zbog selektivnih mortaliteta među infestiranim ribama što je potvrđeno i u istraživanju koje je sproveo Museth (14). Takođe, moguća niža prevalenca kod starijih jedinki može biti i posledica smanjene konzumacije zaraženih cepopoda od strane starijih jedinki (15). Prisustvo parazita kod samo jedne od istraživanih vrsta (bodorka) može se objasniti povećanim afinitetom parazita ka određenom domaćinu u ovom slučaju bodorki. Iako i druge vrste koje su istraživane mogu da obole, bodorka je češće inficirana nego druge vrste riba što je potvrđeno i u istraživanju koji su sproveli Loot i sar. (16). U skladu sa istraživanjima Kennedy i sar. (15) *Ligula* najčešće ima svoj biološki ciklus i javlja se epizootiški kod određene vrste ribe u periodu od -5 godina, i ima veliki potencijal za dalje širenje što zavisi i od migratornih ptica koje su pravi domaćini. Nakon dolaska ptica, nosioca infekcije, dolazi i do pojave bolesti na određenom lokalitetu, što dovodi i do povećanog mortaliteta riba (16). Mortalitet riba vremenom smanjuje i prenošenje infekcije, jer ptice u tom slučaju ne konzumiraju zaražene ribe i delimično se zaustavlja razvojni ciklus.

Praćen je i intenzitet infestacije tj. broj parazita po infestiranoj ribi, pri čemu je

utvrđena srednja vrednost od 2,2 parazita po ribi, minimalna vrednost 1 a maksimalna 4 parazita (*Ligula intestinalis*) po infestiranoj jedinki. Prosečna dužina parazita bila je 21,5 cm, minimalna dužina iznosila je 7 cm, a maksimalna 35 cm. Prisustvo više parazita u trbušnoj duplji infestiranih jedinki nije neuobičajena pojava i javlja se redovno. Kod nekih istraživanja utvrđeno je i prisustvo mnogo većeg broja parazita kod jedne ribe. Ergonul i Altindag (13) detektovali su maksimalno 9 plerocerkoida *Ligula intestinalis* kod zaraženog linjaka. Takođe njihova dužina zavisi od vrste ribe, starosti infestacije, veličine ribe, imuniteta i drugih faktora (3). Svi praćeni parametri (prevalenca, intenzitet infekcije, dužina parazita) praćeni su i tokom različitih meseci (jul, avgust, septembar, oktobar, novembar), radi utvrđivana sezonalnosti i dinamike učestalosti liguloze. Dobijeni rezultati pokazuju da je najveća prevalenca bila prisutna tokom septembra i iznosila je 69% dok je najniža bila tokom avgusta i novembra (38,5%). Najveći intenzitet infestacije bio je takođe tokom septembra (2,4%), a najmanji u julu kada je nađeno prosečno 1,8 plerocerkoida *Ligula intestinalis* po zaraženoj ribi. Najveće srednje vrednosti dužine parazita nalazile su se u novembru i dostigle 24,7 cm, a najmanje vrednosti su bile tokom jula (15,3 cm). U istraživanju koje su sproveli Ergonul i Altindag (13), a koje se bavi pojavom i dinamikom infestacije plerocerkoida *Ligula intestinalis* kod linjaka u Turskoj, zabeležena je najveća prevalenca koja je iznosila 78% u julu, zatim 48% u septembru, dok je najniža bila u maju (8,3%). Intenzitet infestacije tokom ove studije kretao se od 1,33 u januaru do 3,20 plerocerkoida po jedinki u julu. Ova sezonska fluktuacija koja je zabeležena i tokom ove studije najverovatnije je posledica navika u ishrani zaraženih riba i sezonskoj dinamici odgovarajućih cepopoda koje su prelazni domaćini u lancu razvojnog ciklusa ovog obolenja. Yavuzcan i sar. (6) su takođe radili istraživanje infestacije plerocerkoidom *Ligula intestinalis* kod linjaka u jezeru Bejšehiru Turskoj i utvrdili najveću prevalencu od 85,7% u februaru kod ribe dužine 20,5-24,4 cm. Prevalenca tokom ostalih meseci takođe je bila visoka, naročito kod ribe pomenute dužine, dok je najniža (33,3%) bila dužine 32,5-36,4 cm. Intenzitet infestacije u pomenutoj studiji bio je najveći u januaru kod ribe dužine 24,5-28,4 cm i iznosio je 7 parazita po zaraženoj ribi, a maksimalna vrednost je bila čak 14 parazita koliko je zabeleženo u kod jedne ispitivane jedinke. Jedan od razloga za povećanu akumulaciju parazita jeste i njihov rast, a naročito kada se uzme u obzir da oni mogu da prežive u ribi i do nekoliko godina (6). Kada su u pitanju različiti polovi, odnosno mužjaci i ženke nije zabeležena nikakva razlika između njih, jer sam parazit nema povećan afinitet prema različitim polovima.

Terapija nije moguća, a profilaksa naročito u otvorenim vodama se sprovodi veoma teško, jer je teško kontrolisati razvojni ciklus parazita, a naročito prisustvo brojnih ptica. Stoga je teško utvrditi koja vrsta ptica ima dominantnu ulogu u prenošenju bolesti.

ZAKLJUČAK

U uzorku od 300 riba *Ligula intestinalis* je utvrđena samo kod bodorke koja je činila skoro četvrtinu uzorka, tačnije 21,6 % uzorka. Prevalenca liguloze kod bodorke je iznosila 47,7 %, dok je intentitet infekcije bio 2,2 parazita po ribi, pri čemu je minimalna vrednost bila 1 a maksimalna 4 parazita po infestiranoj jedinki. Prosečna dužina parazita bila je 21,5 cm, minimalna dužina iznosila je 7 cm, a maksimalna 35 cm. Najveća prevalenca je bila tokom septembra i iznosila je 69% dok je najniža bila tokom avgusta i novembra (38,5). Najveći intenzitet infestacije bio je takođe tokom septembra (2,4), a najmanji u julu kada je nađeno prosečno 1,8 plerocerkoida *Ligula intestinalis* po zaraženoj ribi. Najveće srednje vrednosti dužine parazita bile se u novembru i dostigle 24,7 cm, a najmanje vrednosti su bile tokom jula i iznosile su 15,3 cm.

LITERATURA

1. *Novakov N., Radosavljević V., Ćirković M. Bolesti slatkovodnih riba, Poljoprivredni fakultet – Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad, 2015.*
2. *Oktener A. A checklist of metazoan parasites recorded in freshwater fish from Turkey. Zootaxa 2003, 394:1–28.*
3. *Yavuzcan H.Y., Korkmaz A.S., Zencir O. The infection of tench (Tinca tinca) with Ligula intestinalis plerocercoids in Lake Beysehir (Turkey). Bulletin of European Association of Fish Pathologists 2003, 23(5):223-227.*
4. *Ahmadiara E. Morphological and molecular study of Diphyllobothriidae family in Abramis brama and Alburnoides bipunctatus fishes. PhD thesis, University of Tehran, Tehran, Iran, 2013.*
5. *Shields B.A., Groves K.L., Rombauch C., Bellmore R. Ligulosis associated with mortality in largescale suckers. Journal of Fish Biology 2002, 61:448–455.*
6. *Arme C. Ligula intestinalis, a tapeworm contraceptive. Biologist 2002, 49:265–269.*
7. *Barson M., Marshall B.E. The Occurrence of the Tapeworm* Ligula intestinalis *(L.), in Barbus paludinosus from a Small Dam in Zimbabwe, African Journal of Aquatic Sci*ences 2003, *28:175–178.*
8. *Bozorgnia A., Omidzahir S.H., Hoseini S.M., Darzi S.H. Occurrence and histopathological effect of Ligula intestinalis on Sea bream (Abramis brama Orientalis). Iranian Journal of Aquatic Animal Health 2016, 2:34-43.*
9. *Trubiroha A., Wuertz S., Frank S.N., Wures B., Kloas S. Expression of gonadrophin subunits in roach (Rutilus rutilus, Cyprinidae) infected with plerocercoids of the tapeworm Ligula intestinalis (Cestoda). International Journal of Parasitology 2009, 39:1465–1473.*
10. *Bauer O.N. Ključ za determinaciju parazita slatkovodnih riba faune SSSR-a. Akademija nauka SSSR. Lenjingrad, 1987.*
11. *Bean C.W., Kirkwood R.C. First record of Ligula intestinalis from stone loach. Journal of Fish Biology 1997, 50:455-456.*
12. *Williams M.A., Penlington M.C., King J.A., Hoole D., Arme C. Ligula intestinalis (Cestoda) infections of roach (Rutilus rutilus) (Cyprinidae): immunocytochemical investigations into the salmon- and chicken-II type gonadotrophin hormone (GnRH) systems in host brains. Acta Parasitologica 1998, 43(4): 232-235.*
13. *Ergonul M.B., Altindag A. The occurrence and dynamics of Ligula intestinalis in its cyprinid fish host, tench, Tinca tinca, in Mogan Lake (Ankara, Turkey). Veterinarni Medicina 2005, 50(12):537–542.*
14. *Museth J. Effects of Ligula intestinalis on habitat use, predation risk and catchability in European minnows. Journal of Fish Biology 2001, 59:1070–1080.*
15. *Kennedy C.R., Shears P.C., Shears J.A. Long-term dynamics of Ligula intestinalis and Rutilus rutilus: astudy of three epizootic cycles over 31 years. Parasitology 2001, 123:257–269.*
16. *Loot G., Lek S., Dejean D., Guégan J.F. Parasite-induced mortality in three host populations of the roach Rutilus Rutilus (L.) by the tapeworm Ligula intestinalis (L.). Annales de Limnologie 2001, 37:151–159.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 591.436:637.1
Petrović et al., pp 105-111

UTICAJ ANTI-INFLAMATORNOG EFEKTA NIACINA NA ENZIME JETRE I OKSIDATIVNI STRES KRAVA U RANOJ LAKTACIJI

EFFECTS OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF NIACIN ON LIVER ENZYMES AND OXIDATIVE STRESS OF COWS IN EARLY LACTATION

Kosta Petrović[a], Dragica Stojanović[a*]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu,*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of agriculture, University of Novi Sad,*
**kontakt osoba: e-mail: kostapetrovic84@gmail.com*

APSTRAKT

Cilj ovog rada je da se utvrdi uticaj niacina na inflamatorni odgovor i funkcionlani status jetre (razmotren kroz aktivnost enzima jetre) kod krava u ranoj laktaciji. Ogled je izvršen na 30 krava Holštajn-frizijske rase: 15 koje su primale niacin i 15 krava u negativnoj kontroli. Niacin je aplikovan u periodu dve nedelje pre i dve nedelje posle teljenja. Krv je uzimana venepunkcijom v.coccigea kod krava u periodu pre jutarnjeg hranjenja, u momentu teljenja, potom jednu i dve nedelje nakon teljenja. Aplikacija niacina dovodi do smanjenja koncentracije tumor necrosis factor alpha (TNF-α), haptoglobina i nonesterified fatty acid (NEFA). Korelacija između enzima jetre(AST, GGT) i MDA sa NEFA je kontrolisana preko TNF-α. Niacin pored antilipolitičkog efekta, pokazuje i antiinflamatorni efekat koji može biti značaj mehanizam u zaštiti hepatocita u ranoj laktaciji kod mlečnih krava. Od velikog značaja se pokazao uticaj niacina na TNF-α, jer ovaj citokin kontroliše korelaciju između indeksa funkcionalnog statusa jetre, lipolize i inflamatornog odgovora.

Ključne reči: krave, inflamacija, jetra, niacin, tumor necrosis factor alpha.

ABSTRACT

The goal of this study is to determine the effect of niacin on the inflammatory response and functional status of the liver (considered through liver enzyme activity) in cows in early lactation. The experiment was performed on 30 Holstein-Friesian cows: 15 receiving niacin and 15 cows in negative control. Niacin was administered for two weeks before and two weeks after calving. Blood was taken by venipuncture of v.coccigea in cows before feeding in the morning, at the time of calving, and then one and two weeks after calving. Niacin administration leads to a decrease in the concentration of tumor necrosis factor alpha (TNF-α), haptoglobin and nonesterified fatty acid (NEFA). The correlation between liver enzymes (AST, GGT) and MDA with NEFA was controlled via TNF-α. Niacin, in addition to its antilipolitic effect, also exhibits an anti-inflammatory effect, which may be a significant mechanism in the protection of hepatocytes in early lactation in dairy cows. The influence of niacin on TNF-α has been shown to be of great importance, as this cytokine controls the correlation between liver functional status index, lipolysis, and the inflammatory response.

Key words: cows, inflammation, liver, niacin, tumor necrosis factor alpha.

UVOD

U peripartalnom periodu kod krava razvija se stanje metaboličkog stresa koji se odlikuje smanjenim unosom hrane, negativnim energetskim bilansom, povećanom lipolizom, ketogenezom kao i razvojem insulinske rezistencije (1; 2; 3). Povećana lipoliza kod krava može dovesti do odavanja veće količine proinflamatornih citokina iz masnog tkiva koji se nazivaju adipokini, a najvažniji je tumor nekrozis faktor alfa (TNF-α) (4). Bertoni i sar. (2008) (5) su potvrdili da kod krava koje su klasifikovane kao krave sa visokim inflamatornim indeksom postoji viša vrednost bilirubina, AST, GGT i niža vrednost albumina i holesterola, što ukazuje na biohemijski profil masne jetre. Niacin ispoljava antilipolitički efekat i dovodi do smanjenja lipolize i insulinske rezistencije u ranoj laktaciji i utiče pozitivno na funkcionalni status jetre (6). Davanje antiinflamatornih lekova u peripartalnom periodu takođe dovodi do smanjenja lipolize i stabilizacije funkcionalnog statusa jetre (7). Uzimajući u obzir da je lipoliza pokretač inflamatornog odgovora, a da niacin ima antilipolitičko dejstvo, otvara se mogućnost antiinflamatornog delovanja niacina. Pokazano je da nikotinski receptor GPR109A may inhibit inflammatory cytokine production (8), što znači da niacin može ispoljiti i antiinflamatorni efekat.

U dosadašnjim istraživanjima kod krava nije utvrđeno da li niacin pored antilipolitičkog dejstva može imati i antiinflamatorno dejstvo, te kako je ono povezano sa funkcionalnim statusom jetre u ranoj laktaciji. Cilj ovog rada je da se utvrdi uticaj niacina na inflamatorni odgovor i funkcionlani status jetre kroz analizu i merenje koncentracije i aktivnosti enzima jetre, pre svega AST (aspartat transaminaza), GGT (gama-glutamil transferaza), i MDA (malonaldehid), kod krava u ranoj laktaciji.

MATERIJAL I METODE

Ogled je izvršen na 30 krava Holštajn-frizijske rase u drugoj i trećoj laktaciji, bez znakova poremećaja zdravlja, uz proizvodnju mleka 7500±950 litara. Krave su gajene u slobodnom sistemu, na dubokoj prostirci, ali se u tranzicionom periodu bile u porodilišu, gde je postojao vezani sistem. Ishrana krava je obročna, dok je u porodilištu posle partusa bila po volji. Niacin je aplikovan putem hrane *per os*. Korišćen je Rovimix®Niacin u dozi koja omogućuje dostupnost u crevima oko 6-12g niacina/dan (60-120g krava/dan u hrani). Krv je uzimana venepunkcijom *v.coccigea* kod krava u periodu pre jutarnjeg hranjenja kako bi se izbegao prandijalni efekat na vrednost metabolita. Krv je uzeta u momentu teljenja, potom jednu i dve nedelje nakon teljenja. Dodatno je krv uzeta i pre početka davanja niacina kako bi se ispitali vitameri ovog vitamina u krvi. Određivanje parametara u krvi rađeno je fotometriranjem i vršeno je prema specifikaciji proizvođača. NEFA su određene reakcijom koja se zasniva na acilaciji koenzima A od strane masnih kisleina u prisustvu dodane acil-CoA sintetaze kao katalizatora. Acil-CoA se oksidiše pod dejstvom dodate acil-CoA oksidaze uz proizovdnju vodonik perioksida. Malondialdehid (MDA) – MDA se kvantifikuje u kontrolisanoj kolorimetrijskoj reakciji sa tiobarbiturnom kiselinom, kada se formira obojeni kompleks. AST – AST je enzim koji katalizuje transfer amino-grupe sa L-aspartata na α-ketoglutarat, kada se dobija L-glutamat i oksalacetat.Oksalacetat sa NADH i H pod dejstvom malat-dehidrogenaze kao katalizatora daje obojeni L-malat i NAD^+. GGT – Gama-glutamiltransferaza je enzim koji katalizuje rekaciju između L-γ-glutamil-3-karboksi-4-nitroanilidin-a i glicilglicina, kada se dobija obojeni 5-amino-2-nitrobenzoat.
Faktor nekroze tumora-alfa (TNF-α) – Određivanje koncentracije faktora nekroze tumora-alfa je vršeno pomoću hemilumiscentne imunotest ELISA metod.

REZULTATI

Na osnovu analize grafičkih nalaza dijagrama rasturanja u predhodnom poglavlju, potrebno je bilo utvrditi da li kombinovani uticaj aplikacije niacina i izmerene koncentracije TNF-α kod krava utiče na vrednosti ostalih parametara u krvi krava. Krave su zato klasifikovane u 4 grupe: 1 –primale niacin donji kvartil TNF-α, 2 – primale niacin niži srednji kvartil TNF-α, 3 – nisu primale niacin viši srednji kvartil TNF-α, 4 – nisu primale niacin viši kvartil TNF-α. GLM modelom pokazano je da ovakva klasifikacija krava značajno utiče na vrednosti AST, GGT i MDA. LSD test pokazuje da kod krava koje nisu primale niacin i koje sui male višu koncentraciju TNF-α postoji značajno viša koncentracija sva tri ispitivana parametra u odnosu na grupu krava koja je primal niacina i imala nižu koncentraciju TNF-α.

Grafikon 1-3: Aktivnost AST i GGT i koncentracija MDA kod ispitivanih krava. QTNF1-primale niacin i imale vrednost TNF-α ispod medijane, QTNF2-primale niacin i imale vrednost TNF-α iznad medijane, QTNF3-nisu primale niacin i imale vrednost TNF-α ispod medijane i QTNF4-nisu primale niacin i imale TNF-α iznad medijane.

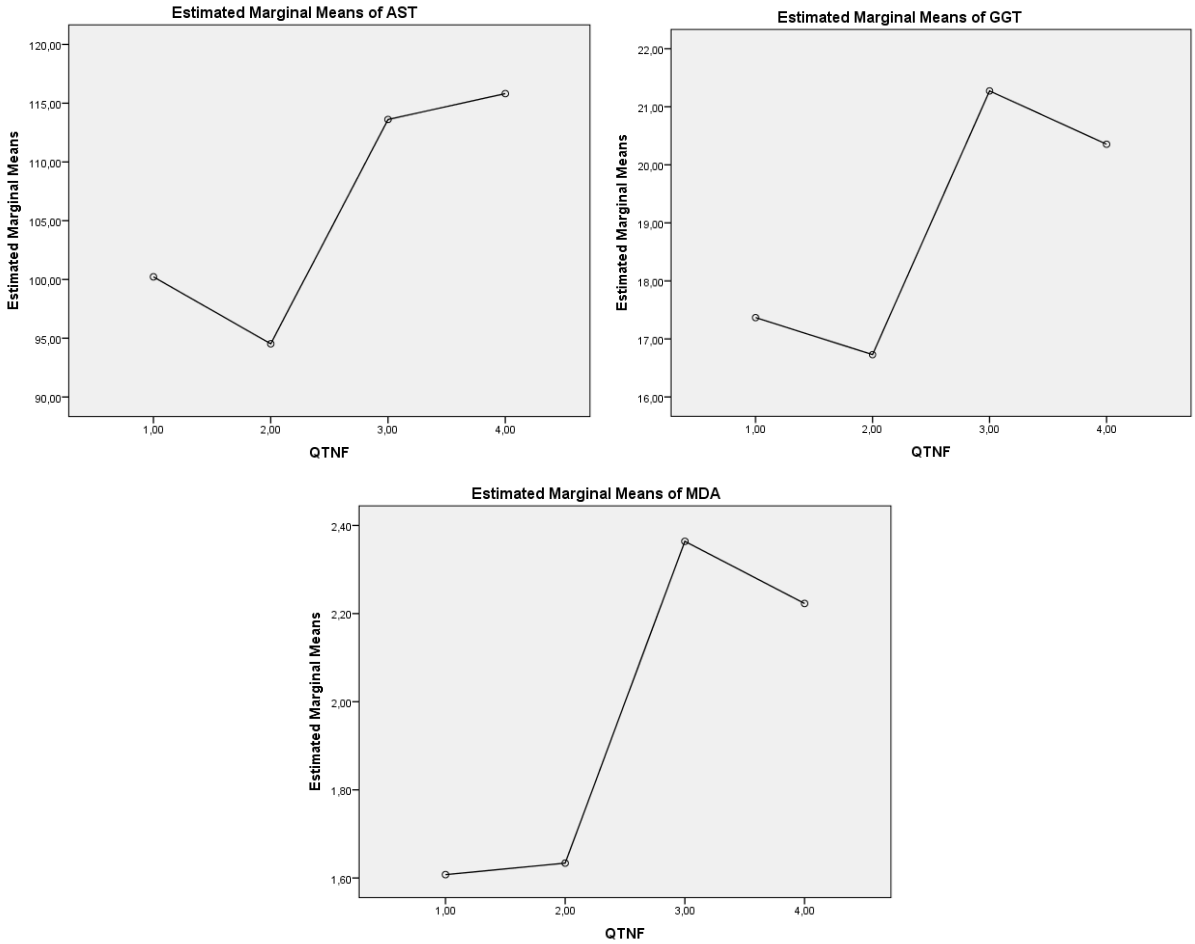


Tabela 1: Korelacija ispitivanih parametara sa vrednostima NEFA u krvi krava u ranoj laktaciji pre i nakon isključenja TNFalfa kao kontrolnog mehanizma

		Originalna korelacija	Parcijalna korelacija posle isključenja TNFalfa
MDA	R	0,616	0,316
	p	<0,001	<0,005
AST	R	0,659	0,504
	p	<0,001	<0,001
GGT	R	0,561	0,389
	p	<0,001	<0,001

DISKUSIJA

S obzirom da u fiziološkim uslovima vrednost NEFA nakon teljenja kao i tokom prve i druge nedelje pokazuje više vrednosti u odnosu na kasniji period laktacije, može se zaključiti iz naših nalaza da je niacin ostvario značajan uticaj na NEFA, te doveo do njihovog opadanja u odnosu na očekivane vrednosti nakon teljenja i u prve dve nedelje laktacije. Naime koncentracija NEFA počinje da raste nekoliko nedelja pre partusa, da bi u prvoj i drugoj nedelji dostigla svoj maksimum i nakon toga počela da opada (9). Koncentracija NEFA zavisi od stepena potrošnje masti, i opterećenosti krava stresom u ranoj laktaciji, te je koncentracija NEFA preko 0,5 mmol/l primarni okidač za nastanak peripartalnih bolesti (10). Naša istraživanja su takođe pokazala da niacin dovodi do opadanja lipidne peroksidacije i vrednosti MDA. Pokazano je da od brojnih promena u metabolizmu, pod uticajem hormonskih promena, masno tkivo zauzima vodeću ulogu u tim promenama, te tako dolazi do porasta koncentracije masnih kiselina u krvi (11), što u slučaju njihovog manjeg iskorišćavanja dovodi do narušavanja morfološkog i fiziološkog stanja tkiva, najpre tkiva jetre. Mi smo pokazali hepatoprotektivni potencijal niacina, jer je njegova aplikacija dovela do opadanja vrednosti AST i GGT. Dobro je poznato da je jetra organ u kom se odvija proces lipogeneze, kao i ostali metabolički procesi, a da bi jetra mogla da ostvari svoje brojne funkcije, ona mora biti morfološki očuvana (12). Kod krava sa visokom proizvodnjom mleka vrlo je učestala masna infiltracija i degeneracija hepatocita, koja se direktno negativno odražava na funkcionalnu sposobnost jetre (13). Naime povišena koncentracija bilirubina u prvoj nedelji laktacije ukazuje na opterećenost žučnih kanalića jetre, dok na krajnji ireverzibilni sindrom nekrotičnih promena na jetri mogu ukazati povišene vrednosti transaminaza. Sve ovo je posledica nakupljanja masti u ćelijama jetre i njeno zamašćenje (14). Naši nalazi su nedvosmisleno pokazali da niacin dovodi do smanjenja vrednosti AST i GGT. U našim istraživanjima je utvrđeno da niacin dovodi do opadanja lipidne peroksidacije i aktivnosti MDA. Nakupljanje lipida u ranoj laktaciji toliko opterećuje hepatocite da se menja njihova mikrostruktura i funkcija te zbog toga lakše otpuštaju enzime u krvotok, pa zbog toga koncentracija jetrinih enzima u krvi raste (15). Hepatoprotektivni efekat niacina u našim nalazima je potvrđen njegovim uticajem na opadanje vrednosti ukupne aktivnosti AST-a i koncentracije GGT-a. Poput svih citokina TNF-α nastaje kao posledica reakcije organizma na prisustvo bakterija, virusa, gljivica, parazita i neoplazmi. Pored TNF-α i IFN-γ je takođe odgovoran za aktivaciju makrofaga (16). U našim istraživanjima je utvrđena pozitivna korelacija između proinflamatornog pokazatelja TNF-α sa NEFA, AST, MDA, GGT. Kao i ostali citokini TNF-α nastaje kao reakcija organizma u odgovoru na jake nadražaje (17), i njegovo prisustvo je dokazano u plazmi kod krava tokom peripartalnog perioda, ukoliko su prisutne

inflamatorne bolesti. Nalazi autora koji su ispitivali potencijalni antiinflamatorni efekat istoimenih lekova, govore u prilog činjenici da se dejstvo ovih lekova na ispitivanim životinjama ispoljava upravo na smanjenju koncentracije TNF-α u serumu (18). Slični rezultati su dobijeni i u našim istraživanjima gde je zabeležena jasna diskriminacija između oglednih i kontrolnih krava, naime nivo TNF-α kod oglednih životinja pokazuje značajno niže vrednosti u prve dve nedelje nakon teljenja. Prema Belić i sar. (2011) (19) krave sa povećanom mobilizacijom masti i ketogenezom, kao i smanjenom koncentracijom glukoze imaju znatno više vrednosti medijatora inflamacije poput neutrofila i limfocita. Koncentracija malondialdehida (MDA) je povećana u postpartalnom periodu i nalazi se u pozitivnoj korelaciji sa NEFA i BHB. Zapravo MDA je jedan od krajnjih metabolita nastalih u reakciji peroksidacije masti u ćeliji. Tokom oksidativnog stresa beleži se povećanje koncentracije slobodnih radikala, koji dovode do peroksidacije masti i hiperprodukcije MDA, koji se iz tog razloga koristi kao marker za detekciju oksidativnog stresa (20).U našim istraživanjima s obzirom da se primarno bave antiinflamatornim efektom niacina, sve metaboličke parametre smo analizirali u odnosu na proinflamatorni pokazatelj TNF-α. Tako je u našem radu nađeno da korelacija između NEFA, i MDA značajno opada nakon isključenja TNF-α kao kontrolnog faktora. Na sindrom masne jetre najčešće ukazuje povećana, ili smanjena aktivnost pojedinih njenih enzima. Najčešći simptomi ovog sindroma su smanjen apetit, pojava ketoze i povišene vrednosti i aktivnost AST i GGT (21). U našem radu su zabeležene opadajuće vrednosti AST i GGT (tabele 1). Usled smanjenja vrednosti AST i GGT u krvi, a poznato je da su ovi parametri značajni markeri za detekciju sindroma masne jetre, može se zaključiti o značajnom hepatoprotektivnom i antiinflamatornom efektu niacina. Suprotno našem saznanju, druga studija nije utvrdila značajan uticaj niacina na vrednosti enzima jetre, te tako koncentracija AST u krvi kod ispitivanih krava se nije značajno menjala (22). U humanoj medicini je dokazan sasvim suprotan efekat, naime reč je o dugotrajnoj upotrebi niacina koja je prouzrokovala povećanje aktivnosti jetrinih enzima (23). Lipotoksičnost i oksidativni stres u jetri su multiple etiologije, naime višak NEFA preko intermediera kao što su lipidni peroksidi, ceramidi i diacilglicerol direktno aktiviraju inflamatorne procese u jetri. (24). Značaj TNF-α u ranoj laktaciji su ispitali i drugi autori i tom prilikom utvrdili da postoji povećana ekspresija gena za TNF-α i IFN-γ u postpartalnom periodu (25).

ZAKLJUČAK

Niacin dovodi do opadanja lipidne peroksidacije i vrednosti MDA. Iz navedenog se uočava da niacin pokazuje hepatoprotektivnu ulogu pa njegova aplikacija dovodi do opadanja vrednosti AST i GGT. Proinflamatorni pokazatelj TNF-alfa pokazuje pozitivnu korelaciju sa NEFA, AST, MDA i GGT. Navedeni rezultati potvrđuju da niacin ispoljava antiinflamatorni efekat, delujući na lipolizu i lipidnu peroksidaciju, i hepatoprotektivni efekat delujući na opadanje vrednosti jetrinih enzima i posledično celokupnu metaboličku adaptaciju krava u ranoj laktaciji.

ZAHVALNOST

Rad je deo projekta finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja R. Srbije.

LITERATURA

1. *Sundrum A. Metabolic Disorders in the Transition Period Indicate that the Dairy Cows' Ability to Adapt is Overstressed. Animals 2015, 5: 978-1020.*
2. *Lakić I., Cincović M. R., Belić B., Đoković R., Majkić M., Petrović M.Ž., Nikolić, S. Lipolysis and ketogenesis in cows in early lactation. Acta Agriculturae Serbica 2018, 23(46):265-276.*
3. *Cincović M.R., Đoković R., Belić B., Lakić I., Stojanac N., Stevančević O., Staničkov, N. Insulin resistance in cows during the periparturient period. Acta Agriculturae Serbica 2018, 23(46):233-245.*
4. *Sordillo L.M., Raphael W. Significance of Metabolic Stress, Lipid Mobilization, and Inflammation on Transition Cow Disorders. Vet Clin Food Anim 2013, 29:267–278.*
5. *Bertoni G., Trevisi E., Han X., Bionaz M. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. J. Dairy Sci. 2008, 91(9):3300-3310.*
6. *Cincović M., Hristovska T., Belić B. Niacin, Metabolic Stress and Insulin Resistance in Dairy Cows. In B Group Vitamins-Current Uses and Perspectives. Ed. J.LeBlanc. IntechOpen, London, 2018, pp 107-126.*
7. *Kovačević Z., Stojanović D., Cincović M., Belić B., Davidov I., Stojanac N., Galfi A. Effect of postpartum administration of ketoprofen on proinflammatory cytokine concentration and their correlation with lipogenesis and ketogenesis in Holstein dairy cows. Polish Journal of Veterinary Sciences 2019, 22(3):609-615.*
8. *Li Z., Li X., Lin S., Chen Y., Ma S., Fu Y., Wei C., Xu W. Nicotinic Acid Receptor GPR109A Exerts Anti-Inflammatory Effects Through Inhibiting the Akt/mTOR Signaling Pathway in MIN6 Pancreatic β cells. Annals of Clinical & Laboratory Science 2017, 47(6):729-737.*
9. *Wathes D.C., Cheng Z., Bourne N., Taylor V.J., Coffey M.P., Brotherstone S. Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the interrelationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. Domestic Animal Endocrinology 2007, 33(2):203-225.*
10. *Hachenberg S., Weinkauf C., Hiss S., Sauerwein H. Evaluation of classification modes potentially s uitable to identify metabolic stress in healthy dairy cows during the peripartal period. J.Anim. Sci. 2007, 85:1923-1932.*
11. *Prodanović R., Kirovski D., Šamanc H., Vujanac I., Ivetić V., Savić B., Kureljušić B. Estimation of herd-basis energy status in clinically healthy Holstein cows: practical implications of body condition scoring and shortened metabolic profiles. African J Agricaltural Res. 2012, 7:418–425.*
12. *Kreipe L., Vernay M.C.M.B., Oppliger A., Wellnitz O., Bruckmaier R.M., van Dorland H.A. Induced hypoglycemia for 48 hours indicates differential glucose and insulin effects on liver metabolism in dairy cows. J Dairy Sci 2011, 94: 5435–5448.*
13. *Prodanović R, Kirovski D, Jakić-Dimić D, Vujanac I, Kureljušić B. Telesna kondicija i pokazatelji energetskog statusa krava u visokom graviditetu i ranoj fazi laktacije. Veterinarski glasnik 2010, 64(1-2):43-52.*
14. *Cincović M.R., Belić B., Radojičić B., Hristov S., Đoković R. Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. Acta veterinaria (Beograd) 2012, 62(4):429-444.*
15. *Pechova A., Llek J., Halouzka R. Diagnosis and control of the development of hepatic lipidosis in dairy cows in the peri-parturient period. Acta Vet Brno 1997, 66:235-243.*
16. *Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. Journal of Leukocyte Biology 2004, 75: 163-189.*
17. *Kim K.M., Song J.J., An J.Y., Kwon Y.T. and Lee Y.J. Pretreatment of acetylsalicylic acid promotes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by down-regulating BCL-2 gene expression. J. Biol. Chem. 2005, 280:41047-41056.*
18. *Farney J.K., Mamedova L.K., Coetzee J.F., Kukanich B., Sordillo L.M., Stoakes S.K., Minton J.E., Hollis L.C., Bradford B.J. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2013, 305:R110-7.*

19. *Belić B., Cincović M.R., Stevančević M., Toholj B. Parameters of negative energy balance (NEFA, BHB and glucose) and neutrophil to lympocyte ratio in cows after calving – compariosn of two indicators of stress. 12th Middle European Buiatric Congress, Pula, Croatia, May 18-22, 2011, pp 281-284.*
20. *Gawel S., Wardas M., Niedworok E., Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. Wiad lek. 2004, 57(9-10):453-455.*
21. *Cebra C.K., Garry F.B., Getzy D.M., Fettman M.J. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle:a retrospective study of serum biochemical abnormalities. J. Vet. Intern. Med. 1997, 11, 231–237.*
22. *Chamberlin J. The effects of nicotinic acid supplementation during late/gestation on lipolysis and feed intake during the transition period . MSc thesis, 2006.*
23. *Patterson D.J., Dew E.W., Gyorkey F., Graham D.Y. Niacin hepatitis. South Med J. 1983, 76: 239-241.*
24. *Neuschwander-Tetri B.A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: The central role of nontriglyceridefatty acid metabolites. Hepatology 2010, 52:774–788.*
25. *Heiser A., McCarthy A., Wedlock N., Meier S., Kay J., Walker C., Mallory A., Murray C., Mitchell D., Morgan S., Watkins K., Loor J.J. Roche J.R. Grazing dairy cows had decreased interferon-γ, tumor necrosis factor, and interleukin-17, and increased expression of interleukin-10 during the first week after calving. J. Dairy Sci. 2015, 98:937–946.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 637.1:612.591
Petrović et al., pp 112-120

UTICAJ SEZONE NA KONCENTRACIJU PROTEINA TOPLOTNOG ŠOKA Hsp70 U KRVI KRAVA

EFFECT OF SEASON ON HEAT SHOCK PROTEINS Hsp70 CONCENTRATION IN COWS BLOOD

Miloš Ž. Petrović[*], Radojica Đoković[a], Zoran Ž. Ilić[b], Simeon Rakonjac[a], Snežana Bogosavljević Bošković[a], Vladimir Kurčubić[a], Milun D. Petrović[a]

[a]*Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija;*
[b]*Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija;*
Autor za kontakt: petrovic.milos87@kg.ac.rs: tel +381642883550
[a]*University of Kragujevac, Faculty of Agriculture in Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia;*
[b]*University of Priština, Faculty of Agriculture, Kopaonička bb, Lešak, Serbia;*
Corresponding author: petrovic.milos87@kg.ac.rs.; phone +381642883550

SAŽETAK

Cilj ovog rada je da se utvrdi koncentracija Hsp70 u krvnom serumu krava i ispita njegova povezanost sa vrednostima indeksa toplotnog stresa kod krava (THI) u momentu uzimanja krvi. U ogled je uključeno 7 krava Holštajn frizijske rase, u drugoj i trećoj laktaciji. Krave su držane u slobodnom sistemu i hranjene standardnim obrokom i umiksanom smešom. Voda je bila dostupna ad libitum. Krave su bile normalne telesne kondicije u skladu sa periodom laktacije u kom su se nalazile. Od svake krave krv je uzimana tokom prve ili druge nedelje marta, maja i jula. Krv je uzimana uvek u isto vreme, ali u različitim uzastopnim danima, kako bi se utvrdila veza sa THI indeksom. Kod ispitivanih krava koncentracija Hsp70 imala je sledeće vrednosti: 4,75±1,1 ng/mL u martu; 6,05±1,4 ng/mL u maju i 8,9±2,3 ng/mL u julu. Indeks opterećenosti krava toplotnim stresom (THI) u okviru ispitivane sezone kretao se od 55,6 u martu, 66,9 u maju do 75,6 u julu mesecu. Koncentracija Hsp70 i THI indeks bili su značajno viši kako se ide od proleća ka letu. Rezultati ispitivanja pokazuju porast koncentracije Hsp70 sa porastom THI indeksa. Nađena je pozitivna korelacija između serumske Hsp70 i vrednosti THI indeksa.

Ključne reči: sezona, toplotni stres, Hsp70, mlečne krave.

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the concentration of Hsp70 in the blood serum of cows and to examine its relationship with the values of the heat stress index in cows (THI) at the time of blood collection. Experiment included 7 cows of Holstein Friesian breed, in the second and third lactation. Cows were kept in a free system and fed with a standard meal and mixed mixture. Water was available ad libitum. The cows were of normal body condition according to the lactation period. Blood was taken from each cow during the first or second week of March, May and July. Blood was taken at the same time, but on different consecutive days, to establish a relationship with the THI index. In the cows tested, the concentration of

Hsp70 had the following values: 4.75 ± 1.1 ng / mL in March; 6.05 ± 1.4 ng / mL in May and 8.9 ± 2.3 ng / mL in July. The cow heat stress index (THI) during the study season ranged from 55.6 in March, 66.9 in May to 75.6 in July. The Hsp70 concentration and THI index were significantly higher from spring to summer. The test results show an increase in Hsp70 concentration with an increase in the THI index. A positive correlation was found between serum Hsp70 and THI values.

Key words: season, heat stress, Hsp70, dairy cows.

UVOD

Proteini toplotnog šoka (Heat shock proteins, Hsp) su čaperoni neophodni za pravilno formiranje polipeptidnog lanca i odgovorni su za njegovu translokaciju u ćeliji. Ovi proteini su pronađeni tokom izlaganja toplotnom stresu, kada je njihova koncentracija i ekspresija u ćelijama rasla, čime se objašnjava njihov naziv (1). Proteini toplotnog šoka Hsp su filogenetski konzervirani i ubikvitarni molekuli koji se sintetišu u odgovoru na različite oblike stresa. Naime, sve ćelije, tkiva ili organizmi reaguju na različite vrste stresa (oksidativni stres, termički stres, ishemija, vežbanje, metabolički stres) brzom ekspresijom specifične grupe proteina, proteina toplotnog šoka (Hsp). Najpoznatiji članovi familije Hsp70 su: stresom indukovani oblik HSP70 / HSP72 (HSPA1A). Kod goveda je identifikovano četiri vrste gena za Hsp70, a iRNK za ovaj protein nađena je u tkivu različitih vrsta ćelija i u krvnoj plazmi (2,3). Najviše proučavani Hsp su Hsp73 i Hsp72. Hsp73 se sintetizuje u većini ćelija organizama i malo je inducibilan. Citosolni inducibilni oblik Hsp72 (72 kDa), može predstavljati i do 20% ukupnog ćelijskog proteina i može posredovati kroz citoprotektivne, antiapoptotske i imunološke regulatorne efekte (2).

Hsp70 u zavisnosti od lokalizacije ima sposobnost da ispolji potpuno suprotne efekte. Ekstracelularni (eHsp70) dospeva iz ćelija u krvotok iz živih ćelija izloženih stresu putem vezikularne sekrecije, egzozoma ili lizozoma i preko intaktne lipidne membrane, ali i pasivnim putem iz oštećenih i nekrotičnih ćelija (4). Intracelularni (iHsp70) pomaže u ponovnom uspostavljanju prirodne konformacije denaturiranih proteina pod uticajem različitih stresora, sprečavajući njihovu agregaciju i čuvajući ćelije od apoptoze i ispoljavajući antiinflamatorno dejstvo. Ekstracelularni Hsp70 ima ulogu citokina, imunostimulirajuću ulogu (pomaže u sintezi proinflamatornih citokina) i poboljšava antitumorsku kontrolu (5).

U radu Petrovića i sar. (4) kao odgovor na metabolički stres tokom tranzicionog perioda, kod muznih krava se razvijaju brojni patofiziološki mehanizmi (inflamacija, insulinska rezistencija i metabolička adaptacija). Proteini toplotnog udara imaju značajan uticaj u regulaciju ovih procesa kod različitih životinjskih vrsta i kod ljudi. Pomažu u očuvanju proteinske strukture ćelije i njenom preživljavanju. Međutim, ako se nađu ekstracelularno, pokazuju proinflamatorne efekte i imaju veze sa razvojem insulinske rezistencije i dijabetesa.

U organizmu muznih krava aktiviraju se brojni mehanizmi, čija je glavna uloga da sve te procese održava u fiziološkim granicama. U regulaciji ovih dominantnih procesa kod mlečnih krava, HSP 70 proteini toplotnog stresa igraju ključnu ulogu (6).

Periodi toplotnog stresa koji su uzrokovani mnogobrojnim faktorima životne sredine smanjuju produktivnost životinja sa velikim ekonomskim posledicama na svetskom nivou. Visoke temperature kako dnevne tako i na mesečnom nivou i visoka vlažnost vazduha štetno deluju na produktivnost muznih krava.

Krave u laktaciji imaju povećanu osetljivost na toplotni stres u poređenju sa zasušenim kravama, usled povećanja metabolizma za proizvodnju mleka (7).

Mnogi autori ističu da sposobnost preživara da regulišu telesnu temperaturu zavisi i od vrste i rase. Mlečne rase goveda su osetljivije na toplotni stres od tovnih rasa, a životinje sa visokom proizvodnjom podložnije su toplotnom stresu jer produkuju više metaboličke toplote. Dokazi upućuju da unutar domestifikovanih preživara postoje razlike između vrste, rase i nivoa proizvodnje u pogledu osetljivosti na toplotni stres (8-10). Štaviše, zbog pozitivnog odnosa proizvodnje mleka i proizvodnje toplote, krave sa većom proizvodnjom su izloženije toplotnom stresu nego životinje sa nižom proizvodnjom mleka (11). Muzne krave poput drugih homeotermičkih životinja izložene visokim ambijentalnim temperaturama, povećavaju puteve gubitka toplote i smanjuju njenu proizvodnju u pokušaju da održe euthermiju.

U korpori mamilariji zadnjeg hipotalamusa dolaze signali iz preoptičke regije i sa periferije tela, pa oni zajedno podstiču reakcije za stvaranje toplote ili za odavanje toplote. Ovaj sistem se zove hipotalamusni termostat (12). Jedan od najvažnijih činilaca komfora i dobrobiti životinja je stalna ambijentalna temperatura (13). Cincović (14) ističe da toplotni stres predstavlja stanje u kojem su životinje izložene visokim temperaturama okoline koje su izvan biološkog optimuma. Zbog direktnog uticaja tih uslova, proizvodnja toplote kod životinje je veća od njenog oslobađanja. U ovom se slučaju energija koristi za hlađenje da bi se homoeotermija zadržala umesto da se koristi za produktivnost životinja.

Neposredni fiziološki odgovori na toplotno opterećenje kod muznih krava su povećan broj respiracija, smanjen unos hrane i povećan unos vode. Takođe, toplotni stres utiče i na zahteve za održavanje dinamičke ravnoteže organizma i metaboličke procese, efikasnost iskorišćavanja hrane, prinos mleka po grlu i grupi, reproduktivnu efikasnost krava (duži servis period), izmenjeno ponašanje muznih krava i učestalost pojave bolesti u peripartalnom periodu i periodu laktacije.

Kod krava izloženih toplotnom stresu, trenutni mehanizam suzbijanja stresa je smanjenje unosa hrane, što uzrokuje smanjenje dostupnosti hranljivih sastojaka koji se koriste za sintezu mleka (15-17). Smanjena produktivnost posledica je i metaboličkih i endokrinih adaptacija. Smanjeni unos hrane uzrokuje i smanjenje koncentracije glukoze u peripartalnom i laktacionom periodu (18). Krave za vreme toplotnog stresa imaju smanjen unos hrane, ali su smanjena i lipoliza i ketogeneza. Pored toga, hormoni koji regulišu homeostazu u laktaciji u toplotnom stresu gube tu sposobnost (19, 20). Kao posledica toplotnog stresa, metaboličke promene neposredno utiču na proizvodnju mleka. Dinamičke promene vrednosti metabolita mogu pokazati prilagođavanje životinja na stres (21).

Klima Evrope se znatno izmenila, što ukazuje na ukupni porast temperature od 1°C (na godišnjem nivou), porast padavina u severnoj Evropi, kao i veći broj vrućih, i sunčanih dana u jugoistočnoj Evropi, praćenih povremenim toplotnim talasima (22). Vranić i Milutinović (23) izjavili su da će Srbija verovatno doživeti porast temperature do 4°C i pad letnjih padavina do 50%.

Glavni pokazatelj toplotnog naprezanja je indeks temperaturne vlažnosti (THI), koji predstavlja vezu između temperature vazduha i relativne vlažnosti. Toplotni stres kod muznih krava se javlja kada THI prelazi 72 (9,24). U našem geografskom području na teritoriji Republike Srbije to se događa od druge polovine maja do kraja septembra. Retrospektivne analize su pokazale da je kritična vrednost THI indeksa iznad koje se javljaju fiziološke adaptacije, pad produktivnosti i patofiziološke izmene na nivou od 72 (15,25). Ovu vrednost kao kritičnu je pokazao i veliki broj istraživača u svetu.

Termoneutralna zona se nalazi između donje i gornje kritične ambijentalne temperature. Smatra se da donja kritična temperatura kod mlečnih krava koje proizvode 30 kg mleka dnevno iznosi od -16 ºC do -37 ºC. Gornja kritična temperatura

iznad koje se može razviti hipertermija iznosi 25-26 ºC (9). Prema Polsky i von Keyserlingk (26), broj dana u kojima indeks temperaturne vlažnosti (THI) prelazi prag komfora (> 72) raste na severu Sjedinjenih Država, Kanade i Evrope.

Na severu Republike Srbije u AP Vojvodina, maksimalne dnevne vrednosti THI pokazale su pozitivan trend od 2005. do 2016. za sve mesece izuzev za januar, oktobar i novembar (27). Cincović i sar. (27) su pokazali negativnu korelaciju između prosečne desetogodišnje THI vrednosti i proizvodnje mleka i pozitivnu korelaciju sa temperaturom kože vimena.

Takođe, toplotni stres kod muznih krava karakteriše smanjen prinos i izmenjeni sastav mleka (28). Pad produktivnosti nastaje zbog smanjenog unosa hrane, kao rezultat endokrine i metaboličke adaptacije na visoku telesnu temperaturu i okolinu (29, 30). Faza laktacije je važan faktor koji loše utiče na proizvodnju mleka tokom toplotnog stresa. Utvrđeno je da su muzne krave na sredini laktacije osetljivije u odnosu na muzne krave u ranoj i kasnoj laktaciji (31). Međutim, prema Cincović i sar. (32) toplotni stres ne utiče na prinos mleka, mlečne masti i procenat proteina na nivou cele laktacije, bez obzira na period laktacije u kom su krave bile izložene stresu. Vrednost THI bila je između 72 i 82, što ukazuje na postojanje umerenog intenziteta toplotnog stresa.

Uprkos napretku u sistemima za hlađenje i menadžmentu životne sredine, toplotni stres i dalje predstavlja veliki trošak za globalnu stočarsku proizvodnju (33). Mlečne krave su izuzetno osetljive na visoke temperature (34), a toplotni stres ne samo da smanjuje prinos mleka za 35% - 40% (15), već dovodi i do zdravstvenih problema i metaboličkih poremećaja (34, 35). Berman (36) je nagovestio da efektivna temperatura okoline iznad 35 °C aktivira reakciju toplotnog stresa kod mlečnih krava. Reakcija na toplotni stres uključuje aktiviranje transkripcionog faktora toplotnog stresa (HSF) i pojačanu ekspresiju proteina toplotnog šoka (Hsp) (37). U radu Kavanagh i sar., (38) i Gaughan i sar., (39) pokazano je da se koncentracija ekstraćelijskog Hsp70 povećava i tokom izlaganja životinja toplotnom stresu. U mnogim radovima pokazano je da je familija faktora transkripcije (HSF), važan prvi odgovor tokom toplotnog stresa (40, 41). Proteini toplotnog šoka (Hsp) se smatraju potencijalnim pokazateljima prilagođavanja životinja teškim uslovima stresa iz okoline i koreliraju sa otpornošću na stres (42). Tradicionalno, indeks temperaturne vlažnosti (THI) koristi se kao indeks za procenu stepena toplotnog stresa kod mlečnih krava (34). Prednost THI-a je u tome što se lako koristiti u praksi, ali THI je samo gruba procena toplotnog stresa, a ne direktna reakcija samog metabolizma životinje. Na centralnu ulogu koju Hsp ima u citoprotekciji tokom toplotnog stresa, pokazuje činjenica da prekomerna ekspresija Hsp štiti od hipertermije i cerebralne ishemije tokom toplotnog udara (43). Toplotni šok uzrokuje pojačanu sintezu Hsp, smanjenu sintezu proteina, mitohondrijsko oticanje i kretanje organela dalje od plazma membrane povezane sa reorganizacijom citoskeleta (44- 46). Maloyan i Horovitz (47) izvestili su da je prekomerna ekspresija Hsp72 zajedno sa hormonalnim signalima sastavni deo procesa aklimatizacije na povišenu temperaturu.

Poznato je veoma malo informacija koje pokazuju da HSF u serumu i Hsp mogu biti biomarkeri za vreme toplotnog stresa. Stoga, cilj ovog rada je da se utvrdi koncentracija Hsp70 u krvnom serumu krava i ispita njegova povezanost sa vrednostima indeksa toplotnog stresa kod krava (THI) u momentu uzimanja krvi.

MATERIJAL I METODE

Materijal – U ogled je uključeno 7 krava Holštajn frizijske rase. Krave su hranjene standardnim obrokom i umiksanom smešom. Bile su u drugoj i trećoj laktaciji. Držane su u slobodnom sistemu. Voda je bila dostupna ad libitum. Krave su bile normalne telesne kondicije u skladu sa periodom laktacije u kom su se nalazile.

Uzimanje krvi i određivanje Hsp70 – Od svake krave krv je uzimana tokom prve ili druge nedelje marta, maja i jula. Krv je uzimana uvek u isto vreme, ali u različitim uzastopnim danima, kako bi se utvrdila veza sa THI indeksom. Koncentracija serumskog HSP70 određena je metodom kompetitivne inhibicione ELISA tehnike. Korišćen je standardni kit proizvođača Cusabio (PRC), a čitač i ispirač od proizvođača Rayto (PRC).

Ispitivanje indeksa opterećenja toplotnim stresom – Termalni komfor krava određen je izračunavanjem indeksa temperature i vlažnosti (THI indeks, eng. temperature humidiry index) pomoću sledeće formule THI=(1,8×Temperatura)-(1-Vlažnost)×(Temperatura-14,3)+32. Podaci o temperaturi i vlažnosti dobijeni su iz zvaničnih izveštaja Hidrometeorološkog zavoda Srbije. U obzir su uzete temperature i vlažnosti izmerene u 14 časova.

Analiza podataka – Uticaj meseca na vrednost Hsp70 i THI indeksa određena je pomoću ANOVA analize. Ispitana je linearnost regresije i korelacije između Hsp70 i THI pomoću Pearsonovog koeficijenta korelacije. Za analizu i predstavljanje rezultata korišćen je Microsoft Office Excel paket.

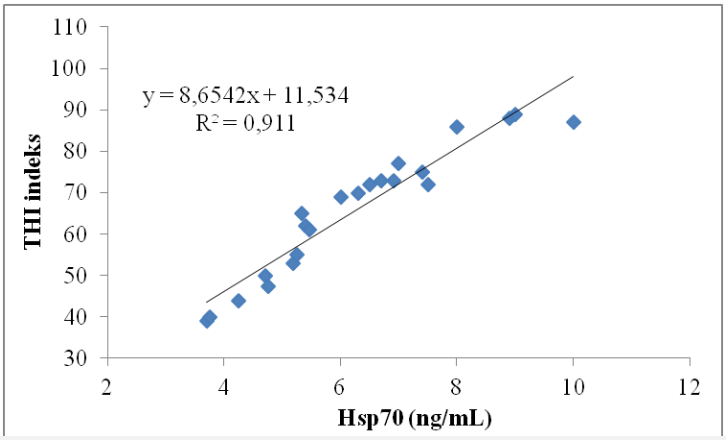
REZULTATI

Koncentracija Hsp70 kod ispitivanih krava imala je sledeće vrednosti: 4,75±1,1 ng/mL u martu: 6,05±1,4 ng/mL u maju i 8,9±2,3 ng/mL u julu. Indeks opterećenosti krava toplotnim stresom (THI) u okviru ispitivane sezone kretao se od 55,6 u martu, 66,9 u maju do 75,6 u julu mesecu (Tabela 1). Koncentracija Hsp70 i THI indeks bili su značajno viši kako se ide od proleća ka letu. Rezultati ispitivanja pokazuju porast koncentracije Hsp70 sa porastom THI indeksa.

Nađena je pozitivna i odlična korelacija između serumske Hsp70 i vrednosti THI indeksa (Grafikon 1).

Tabela 1: Koncentracija Hsp70 u krvi krava i indeks toplotnog stresa (THI)

	Mart ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Maj ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	Jul ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)	p
HSP70	4,75±1,1	6,05±1,4	8,9±2,3	<0,001
THI	55,6±4,1	66,9±6,2	75,6±7,1	<0,05



Grafikon 1: Korelacija i regresija Hsp70 i THI

DISKUSIJA

Postoje brojni faktori koji utiču na koncentraciju Hsp70 u serumu krava, kao što su starost i stadijum laktacije. Koncentracija Hsp72 je viša u prvih 60 dana latacije u odnosu na kasniju laktaciju (48). Međutim, koncentracija Hsp72 je značajno niža kod

krava pred partus i u prvim nedeljama posle partusa, da bi potom rasla (49). Ovo ukazuje na postojanje određenih specifičnosti u regulaciji ekstracelularnog Hsp72 kod krava. Kod mlečnih krava postoji pozitivna korelacija između vrednosti ekstracelularnog i intracelularnog Hsp72.

U malom broju istraživanja ispitana je veza peripartalnog metaboličkog stresa sa vrednostima čaperona. Koncentracija NEFA (neesterifikovanih masnih kiselina) u peripartalnom periodu pokazuju pozitivnu korelaciju sa koncentracijom Hsp72 (48). Cincović i Belić (50) su pokazali da je koncentracija Hsp70 bila značajno viša u nedeljama posle teljenja u odnosu na nedelju pre teljenja. Viša koncentracija NEFA i BHB (beta-hidroksibutirata) nađena je u prvoj i drugoj nedelji posle teljenja u odnosu na ostali period. Koncentracija Hsp70 pozitivno korelira sa vrednostima NEFA i BHB. Parcijalna korelacija pokazuje da su veze jače u prvoj i drugoj nedelji posle teljenja. Metabolički stres povećava koncentraciju Hsp70 u krvi tokom rane laktacije.

Sa druge strane, stvaranje intracelularnog Hsp72 pod dejstvom toplotnog stresa smanjuje insulinsku rezistenciju i smanjuje akumulaciju masti u hepatocitima (51). Koncentracija Hsp72 u leukocitima i plazmi naglo rastu nakon telenja i koreliraju sa NEFA, glukozom i TNFα (48).

U istraživanju Li Min (52) pokazano je da mlečne krave izložene blagom toplotnom stresu i krave u kontrolnoj grupi, imaju značajno niže vrednosti HSF i Hsp70 ($P < 0,05$) u odnosu na krave izložene visokim vrednostima toplotnog šoka. Porast koncentracije HSF i Hsp može poslužiti kao brzi zaštitni mehanizam protiv toplotnog stresa za održavanje homeostaze. Naime, kao što se i očekivalo, nivoi HSF, Hsp27, Hsp70 i Hsp90 u serumu značajno su porasli tokom toplotnog stresa ($P < 0,05$) (52).

ZAKLJUČAK

Toplotni stres kod mlečnih krava je veoma važan faktor, koji smanjuje održivost proizvodnje mleka i njenu isplativost. Rezultati ispitivanja pokazuju da je koncentracija HSP70 kod ispitivanih krava imala sledeće vrednosti: 4,75±1,1 ng/mL u martu: 6,05±1,4 ng/mL u maju i 8,9±2,3 ng/mL u julu. Indeks opterećenosti krava toplotnim stresom (THI) u okviru ispitivane sezone kretao se od 55,6 u martu, 66,9 u maju do 75,6 u julu mesecu. Koncentracija Hsp70 i THI indeks bili su značajno viši kako se ide od proleća ka letu. Rezultati ispitivanja pokazuju porast koncentracije Hsp70 sa porastom THI indeksa. Nađena je pozitivna korelacija između serumske Hsp70 i vrednosti THI indeksa. U odgovoru organizma na toplotni stres, THI i Hsp70 mogu služiti kao veoma značajni pokazatelji.

LITERATURA

1. *Petrović M.Ž., Cincović M.R., Belić B., Đoković R., Starič J., Ježek J. Koncentracija proteina toplotnog stresa (Heat scok protein 70, Hsp70) u krvnom serumu kod krava u ranoj laktaciji. 27. Savetovanje veterinara Srbije, 8-11.09, Zlatibor, 2016., pp 235-238*
2. *Petrović M.Ž., Đoković R., Cincović M., Belić B., Petrović M., Kurćubič V., Ilić Z., Radinović M. Family of heat shock proteins of 70 kDa in the peripartal period in dairy cows. IX International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2018", October 04 – 07, Jahorina, 2018., p. 1063.*
3. *Petrović M.Ž., Đoković R., Cincović M., Belić B., Petrović M., Kurćubič V., Ilić Z., Radinović M. The function of heat shock protein hsp70 in dairy cows in early lactation. IX International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2018", October 04 – 07, Jahorina, 2018, p. 1064.*
4. *Petrović M., Cincović M.R., Đoković R., Starič J., Belić B., Ježek J. Povezanost proteina toplotnog šoka HSP70 sa inflamacijom i insulinskom rezistencijjom - implikacije kod mlečnih krava. Zbornik radova i kratkih sadržaja. 28. Savetovanje veterinara Srbije, 7-10 septembar, Zlatibor, 2017, pp 153-157.*

5. *Petrović M.Ž., Đoković R., Petrović M.D., Kurćubić V., Cincović M.R., Belić B., Ilić Z., Karabasil N. Importance of intracellular and extracellular protein hsp70 in peripartal period in dairy cows. 7th International Symposium on AgriculturalSciences "AgroReS 2018" February 28 – March 2, Banja Luka, 2018, p 109.*
6. *Petrović M.Ži., Đoković R., Ilić Z., Kurćubić V., CIncović M. Bogosavljević-Bošković S., Karabasil N., Petrović M.D. Function and importance of HSP 70 in metabolic stress in dairy cows in peripartal period. The Balkans Scientific Center of the Russian Academy of Natural Sciences.1st International Symposium: Modern Trends in Agricultural Production and Environmental Protection. July 02-05. Tivat, 2019, pp 379-396.*
7. *Purwanto B.P., Abo Y., Sakamoto R., Furumoto F., Yamamoto S. Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. J. Agric. Sci 1990, 114:139.*
8. *Silanikove N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. Small Ruminant Research 2000, 35:181–193.*
9. *Kadzere C., Murphy M., Silanikove N., Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. Livestock Production Sciencen 2002, 77:59-91.*
10. *Collier R.J., Baumgard L.H., Lock A.L., Bauman D.E. Physiological limitations, nutrient partitioning. In Yield of farmed species. Constraints and opportunities in the 21st Century (ed. R Sylvester-Bradley and J Wiseman), pp. 351–377. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2005.*
11. *Spiers D.E., Spain J.N., Sampson J.D., Rhoads R.P. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. J. Therm. Biol. 2004, 29:759–764.*
12. *Cincović, M.R. Toplotni stres krava – fiziologija i patofiziologija, Monografija, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2010.*
13. *Majkić M., Cincović M.R., Belić B., Plavša N. Indeks termalnog komfora (THI) krava u letnjim mesecima od 2005 do 2016 godine na teritoriji AP Vojvodine. Zbornik radova XXII Savetovanje o biotehnilogiji sa međunarodnim učešćem, 10-11.03.2017., Čačak, 2017, pp737-742.*
14. *Cincović M. Metabolički stres krava. Monografija. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu, 2016.*
15. *West J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. J. Dairy Sci 2003, 86:2131–2144.*
16. *Rhoads M.L., Rhoads R.P., VanBaale M.J., Collier R.J., Sanders S.R., Weber W.J., Crooker B.A., Baumgard L.H. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. J. Dairy Sci 2009, 92:1986–1997.*
17. *DeShazer J., Hahn A., LeRoy G., Hongwei X. Chapter 1: Basic Principles of the Thermal Environment and Livestock Energetics Agricultural and Biosystems Engineering Publications 2009, Paper 234.*
18. *Bjerre -Harpoth V., Friggens N., Thorup V., Larsen T., Damgaard B., Ingvartsen K., Moyes K. Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. Journal of Dairy Science 2012, 95:2362-2380*
19. *Abeni F., Calamari L., Stefanini L. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. Blood indicators of heat stress. International journal of biometeorology 2007, 52:87-96*
20. *Cincović M., Belić B. Metabolička adptacija na peripartalni i toplotni stress kod mlečnih krava. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2011, 11:155-159.*
21. *Majkić M., Cincović M.R., Belić B., Plavša N., Lakić I., Radinović M. Relationship between milk production and metabolic adaptation in dairy cows during heat stress. Acta agriculturae Serbica 2017, 22(44):123-31.*
22. *Majkić M., Cincović M.R, Belić B., Plavša N., Hristov S., Stanković B., Popović Vranješ A. Variations in milk production based on the temperature-humidity index and blood metabolic parameters in cows during exposure to heat stress. Animal Science Papers and Reports. 2018;36(4):359-69.*

23. *Vranic P., Milutinovic S. From local sustainable development towards climate change adaptation: a case study of Serbia. International Journal of Sustainable Development World Ecology 2016, 23:71-82.*
24. *Dikmen S., Hansen P.J. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? J. Dairy Sci 2009, 92:109-116.*
25. *Ravagnolo O., Misztal I. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. J Dairy Sci 2000, 83:2126–2130.*
26. *Polsky L., von Keyserlingk M.A. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. Journal of dairy science 2017, 100(11):8645-57.*
27. *Cincović M.R., Majkić M., Belić B., Plavša N., Lakić I., Radinović M. Thermal comfort of cows and temperature humidity index in period of 2005-2016 in Vojvodina region (Serbia). Acta Agriculturae Serbica 2017, 22(44):133-45.*
28. *Cincović M., Belić B. Uticaj termalnog stresa krava na količinu i kvalitet proizvedenog mleka. Veterinarski žurnal Republike Srpske 2009, 9: 53-56.*
29. *Hristov S., Stanković B., Joksimović-Todorović M., Bojkovski J., Davidović V. Uticaj toplotnog stresa na proizvodnju mlečnih krava. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik 2007, 13(3-4):47-54.*
30. *Bernabucci U., Lacetera N., Baumgard L.H., Rhoads R.P., Ronchi B., Nardone A. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domestic ruminants. Animal 2010, 4(7):1167-1183.*
31. *Johnson H.D. Bioclimate effects on growth, reproduction and milk production. In: Johnson, H.D. (Ed.), Bioclimatology and the adaptation of livestock. Elsevier, Amsterdam, 1987, pp. 35-57.*
32. *Cincović M.R., Belić B.M., Toholj B.D., Radović I.V., Vidović B.R. The influence of THI values at different periods of lactation on milk quality and characteristics of lactation curve. Journal of Agricultural Sciences (Belgrade) 2010, 55(3):235-41.*
33. *St-Pierre N., Cobanov B., Schnitkey G., Economic losses from heat stress by us livestock industries. J. Dairy Sci. 2003, 86:E52-E77.*
34. *Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A. The effects of heat stress in italian Holstein dairy cattle. J Dairy Sci. 2014, 97(1):471-486.*
35. *Wheelock, J.B., Rhoads, R.P., Vanbaale, M.J., Sandrers S.R., Baumgard L.H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. J. Dairy Sci. 2010, 93(2):644-655.*
36. *Berman A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. J. Anim. Sci. 2005, 83(6):1377-1384.*
37. *Collier, R.J, Collier, J.L, Rhoads, R.P., Baumgard L.H. Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. J. Dairy Sci. 2008, 91(2):445-454.*
38. *Kavanagh K., Flynn D.M., Jenkins K.A., Zhang L., Wagner J.D. Restoring HSP70 deficiencies improves glucose tolerance in diabetic monkeys. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2011, 300(5):E894-901.*
39. *Gaughan J.B., Bonner S.L., Loxton I., Mader T.L. Effects of chronic heat stress on plasma concentration of secreted heat shock protein 70 in growing feedlot cattle. J. Anim. Sci. 2013, 91(1):120-129.*
40. *Trinklein N.D., Murray J.I., Hartman S.J., Botstein D., Myers R.M. The role of heat shock transcription factor 1 in the genome-wide regulation of the mammalian heat shock response. Mol. Biol. Cell 2004, 15(3):1254-1261.*
41. *Page T.J., Sikder D., Yang L., Pluta L., Wolfinger D.R., Kodadek T., Tomas S.R. Genome-wide analysis of human HSF1 signaling reveals a transcriptional program linked to cellular adaptation and survival. Mol. Biosyst. 2006, 2(12):627-639.*
42. *Feder M.E., Hofmann, G.E., Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annu. Rev. Physiol. 1991, 61(1):243-282.*
43. *Lee W.C., Wen H.C., Chang C.P., Chen M.Y.,Lin M.T. Heat shock protein 72 overexpression protects against hyperthermia, circulatory shock and cerebral ischemia during heat stroke. Journal of Applied Physiology 2006, 100:2073–2082.*
44. *Edwards J.L., Hansen P.J. Elevated temperature increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. Biology of Reproduction 1996, 55:341–346.*

45. *Edwards J.L., Ealy A.D., Monterroso V.H., Hansen P.J. Ontogeny of temperature-regulated heat shock protein 70 synthesis in preimplantation bovine embryo. Molecular Reproduction and Development 1997, 48:25–33.*
46. *Rivera R.J., Kelley K.L., Erdos G.W., Hansen P.J. Alterations in ultrastructural morphology of two-cell bovine embryos produced in vitro and in vivo following a physiologically relevant heat shock. Biology of Reproduction 2003, 69:2068–2077.*
47. *Maloyan A., Horowitz M . Beta-adrenergic signaling and thyroid hormones affect Hsp72 expression during heat acclimation. Journal of Applied Physiology 2002, 93:107–115.*
48. *Catalani E., Amadori M., Vitali A., Bernabucci U., Nardone A., Lacetera N. The Hsp72 response in peri-parturient dairy cows: relationships with metabolic a,nd immunological parameters. Cell Stress & Chaperones 2010, 15(6): 781-790.*
49. *Kristensen T.N., Løvendahl P., Berg P., Loeschcke V. Hsp72 is present in plasma from Holstein-Friesian dairy cattle, and the concentration level is repeatable across days and age classes. Cell Stress & Chaperones 2004, 9(2):143–9.*
50. *Cincović M., Belić B. Concnetration of blood Hsp70 and its relation with lipid mobilisation and ketogenesis in dairy cows during periparturient period. Contemporary agriculture 2014, 63(1-2):92-7.*
51. *Morino S., Kondo T., Sasaki K., Adachi H., Suico M.A, Sekimoto E., Matsuda T., Shuto T., Araki E., Kai H. Mild electrical stimulation with heat shock ameliorates insulin resistance via enhanced insulin signaling. PloS one. 2008, 3(12).*
52. *Min L., Cheng J.B., Shi B.L., Yang H.J., Zheng N., Wang J.Q. Effects of heat stress on serum insulin, adipokines, AMP-activated protein kinase, and heat shock signal molecules in dairy cows. J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol) 2015, 16(6):541-548*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 568.25
Prokić et al., pp 121-126

NALAZ RETENCIJE ŽUMANČANE KESICE PAČIĆA MANDARINSKE VRSTE *(AIX GALERICULATA)*

FINDING OF THE YOLK SAC RETENTION IN MANDARIN DUCKLINGS (AIX GALERICULATA)

Vladimir Prokić[a]*, Ivana Davidov[a], Nikolina Novakov[a], Bojana Vidović[a]

[a]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu*
[a]*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine*
**kontakt: vladimir.44444@gmail.com*

SAŽETAK

Retencija žumančane kesice uzrokuje velike ekonomske gubitke u živinarskoj proizvodnji. Etiologija i patogeneza retencije žumančane kesice nisu dovoljno istražene, a obolele ptice obično uginu u prvim danima života. Ukupan broj pačića mandarinske vrste posmatranih u ovom eksperimentu iznosio je pedeset pet, dok je uginuće zabeleženo kod četrnaest pačića (25,45%). Pregledom žumančane kesice utvrđeno je prisustvo retencije kod trinaest pačića (92,86%). Kod jednog uginulog pačeta (7,14%) žumančana kesica se nije mogla uočiti što upućuje na to da je bila apsorbovana. Spoljašnjim pregledom leševa pačića uočene su promene na pupku u vidu otvorenog pupka kod četiri uginula pačeta (28,57%). Praćenjem stope mortaliteta tokom prvih deset dana života pačića uočena je najveća stopa mortaliteta trećeg dana života kada je uginulo osam pačića (57,14%), zatim četvrtog dana kada su uginula tri pačeta (21,43%), drugog dana kada su uginula dva pačeta (14,29%), dok je šestog dana uginulo jedno pače (7.14%). Retencija žumančane kesice dovodi do septičnog stanja i nastanka letalnog ishoda.

Ključne reči: retencija, žumančana kesica, pačići.

ABSTRACT

Yolk sac retention is causing great economical losses in poultry industry. Ethiology and pathogenesis of yolk sac retention are not examined enough and diseased birds usually die in their first days of life. Total number of Mandarin ducklings observed in this experiment was fifty five, while mortality has been detected in fourteen ducklings (25,45%). Analysis of yolk sac has shown yolk sac retention present in thirteen ducklings (92,86%). In one dead duckling (7,14%) yolk sac couldn't be observed which is indication of yolk sac resorption. External examination of ducklings cadavers has shown open and unhealed navel present in four dead ducklings (28,57%). Highest mortality rate, during monitor of first ten days of ducklings life, has been recorded during third day, eight dead ducklings (57,14%), then on fourth day, three dead ducklings (21,43%), second day, two dead ducklings (14,29%), while sixth day resulted in death of one duckling (7,14%). Yolk sac retention leads to septic state that can be a cause of death.

Key words: retention, yolk sac, ducklings.

UVOD

Tokom procesa inkubacije, ekstraembrionalni omotači okružuju sadržaj žumanceta čineći žumančanu kesicu koja je povezana sa crevom pomoću žumančane stabljike. Neposredno pre izleganja žumančana kesica se potiskuje iz šupljine jajeta u trbušno-grudnu duplju. U momentu izleganja, žumančana kesica čini 25-30% telesne mase, dok nakon prve nedelje života njena masa postaje zanemarljiva(1).

Retencija žumančane kesice jedno je od vodećih uzroka smrtnosti kod pilića, pačića, ćurića, guščića i prepelica (2). Retencija žumančane kesice pačića smatra se jednim od najznačajnih oboljenja pataka (3,4). Etiologija i patogeneza retencije žumančane kesice kod plovuša su nedovoljno istražene, a obolele ptice uginu do trećeg dana života (5). Nalaz neabsorbovane žumančane kesice na obdukciji u grudno-trbušnoj duplji ukazuje na retenciju žumančane kesice (6).

Žumančana kesica se apsorbuje u toku prve nedelje života. Retencija žumančane kesice kod pataka, koja može nastati kao posledica infekcije (saculitis/omphophlebitis), pored rupture, osnovna je patomorfološka promena uočena kod pačića (5,1). Retencija žumančane kesice predstavlja ozbiljan problem u gajenju pataka gde incidencija retencije u jatu pačića može iznositi čak 20% (3,7). Klinički znaci retencije uključuju distenziju abdomena, dispneju, nepodnošenje stajanja, edematoznu regiju pupka, inapetencu i nesposobnost obolelih jedinki da napreduju u rastu i razvoju (8,9).

Identifikovano je nekoliko faktora koji utiču na pojavu retencije žumančane kesice. Kada bakterije prodru u žumančanu kesicu, povoljni uslovi koji podrazumevaju veliku količinu lipida i vode, omogućavaju intenzivno razmnožavanje bakterija unutar žumančane kesice. Temperatura inkubatora, kao i temperatura tela pačeta, predstavaljaju drugi faktor koji stimuliše intenzivno razmožavanje bakterija koje su već prodrle u žumančanu kesicu. Kao posledica izostanka resorpcije, sadržaj žumančane kesice prelazi iz viskozne svetložute u vodenastu svetlozelenu masu koja nastaje kao posledica denaturacije sadržaja (10,11).

Infekcija, odnosno prodor bakterija koje uzrokuju retenciju žumančane kesice može se odigrati pre ili posle izleganja. Nedovoljno zatvoren pupak odmah nakon izleganja i hematogeno prenošenje bakterija do žumančane kesice su opisani putevi infekcije nakon izleganja pilića (12). Nedovoljno zatvoren pupak nakon izleganja dovodi do pojave subkliničke infekcije žumančane kesice koja je osnovni uzrok retencije iste (13). Pre izleganja, glavni put nastanka retencije je fekalna kontaminacija jaja, preko kontaminirane opreme, inkubatorske stanice i nehigijenskih gnezda. Inficirana žumančana kesica je povećana u odnosu na neinficiranu žumančanu kesicu kod pilića iste starosti (10).

Retencija žumančane kesice sa zapaljenjem žumančane kesice često može biti problem jata, ukazujući na vertikalnu transmisiju oboljenja, kontaminaciju jaja u toku inkubacije ali i na infekciju posle izleganja (5). Retencija i zapaljenje žumančane kesice posledično dovode do septikemije i smrtnog ishoda (14).

Cilj ovog eksperimenta je utvrđivanje učestalosti pojave retencije žumančane kesice kod pačića mandarinske vrste.

MATERIJAL I METODE

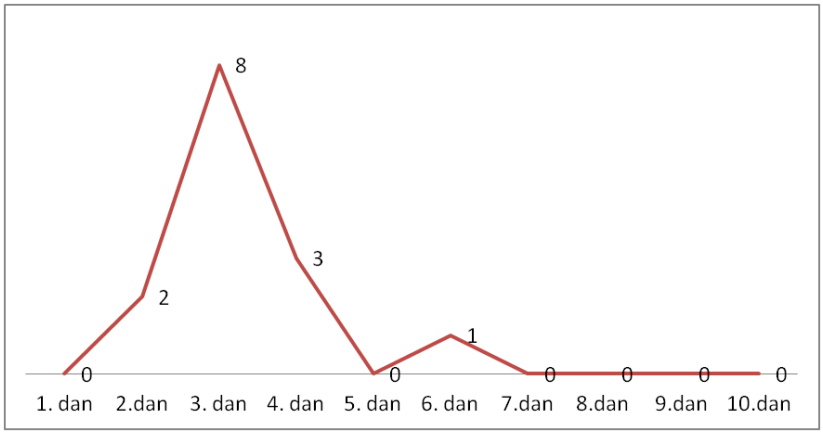
U toku meseca aprila 2017. godine svaki od osam matičnih parova mandarinskih pataka je smešten u posebne volijere za razmnožavanje gde je svakom paru postavljeno veštačko gnezdo na visinu od 50 cm od tla. Svi parovi su u ovom periodu bili izloženi istim klimatskim uslovima. Materijal koji je postavljen u gnezdo činio je livadsko seno i strugotinu. Jaja svih parova su inkubirana prirodnim putem, tokom celog perioda inkubacije, koji kod ove vrste iznosi 28 dana.

Sva legla su odmah nakon izleganja pokupljena ispod patke i prebačena u kontrolisane uslove, koji su podrazumevali konstantnu temperaturu i stalan izvor svetlosti (infracrvena sijalica). Pačićima je obezbeđen stalni pristup hrani i vodi tokom 24 h (15). Kavez za odgoj i smeštaj pačića u prvim danima života bio je obložen kartonskom izolacijom. Objekat za prijem je bio tokom prvih deset dana u potpunosti zatvoren i imao je ravan pod sa prostirkom. Inicijalna temeperatura za useljenje pačića je iznosila 36˚C. Od drugog dana nakon useljenja pačića, temperatura se svakog narednog dana sukcesivno smanjivala za 1˚C dok se nije izjednačila sa sobnom temperaturom.

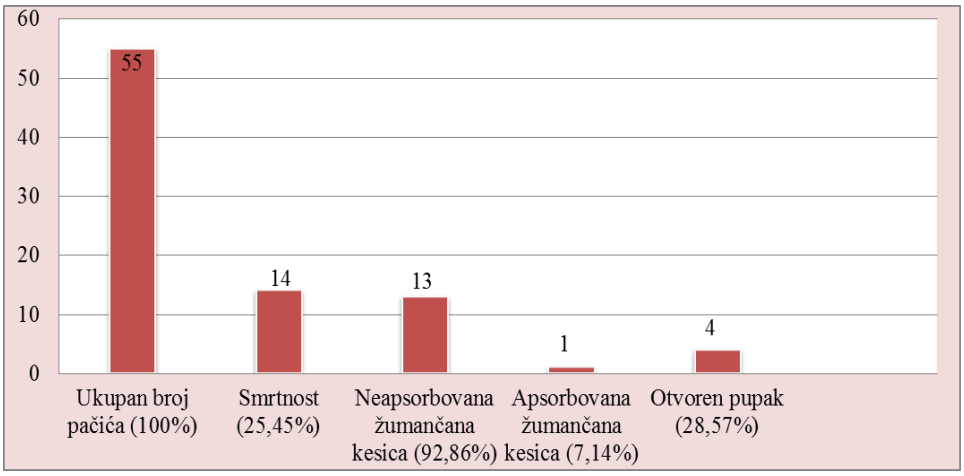
Od osam matičnih parova mandarinskih pataka dobijeno je pedeset pet pačića čija stopa mortaliteta je praćena tokom prvih deset dana života. Od pedeset pet izleženih pačića uginulo je četrnaest pačića (25,45%). Svako uginulo pače podvrgnuto je obdukciji. Izvršena je potpuna obdukcija svakog leša, počevši od spoljašnjeg pregleda leša do otvaranja i pregleda svih unutrašnjih organa. Svaki leš je identifikovan brojem i fotografisan.

REZULTATI

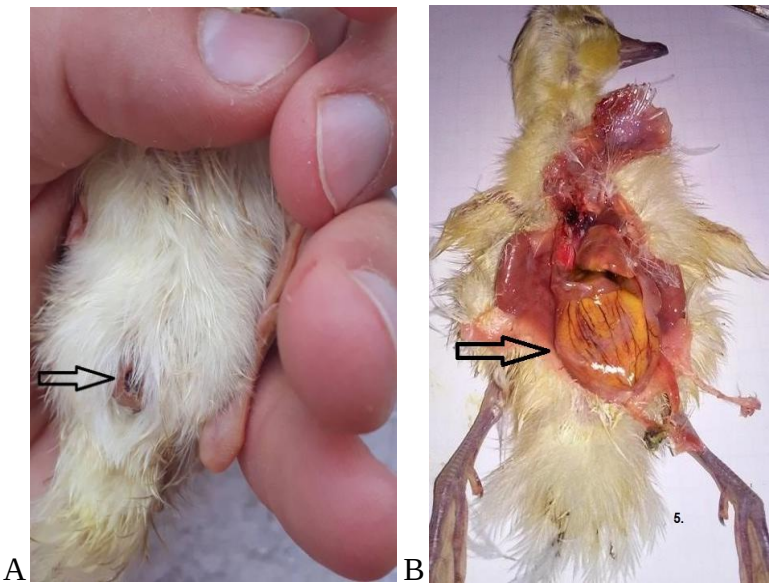
Od ukupnog broja izleženih pačića mandarinske vrste koji iznosi pedeset pet, uginulo je četrnaest pačića (25,45%). Pregledom žumančane kesice, utvrđeno je prisustvo retencije kod trinaest pačića (92,86%). Kod svih pačića čija žumančana kesica nije bila apsorbovna uočeni su inicirani krvni sudovi, zadebljanje zida žumančane kesice, promena boje i gustine sadržaja žumančane kesice koja je bila tamnija od boje žumanceta kao i prisustvo sadržaja neprijatnog mirisa. Kod jednog uginulog pačeta (7,14%) žumančana kesica se nije mogla uočiti što upućuje na to da je bila apsorbovana (grafikon 2). Spoljašnjim pregledom leševa pačića uočena je promena na pupku u vidu otvorenog pupka kod četiri uginula pačeta (28,57%) (fotografija 1). Praćenjem smrtnosti tokom prvih deset dana (grafikon 1) uočena je najveća stopa mortaliteta trećeg dana kada je uginulo osam pačića (57,14%), zatim četvrtog dana kada su uginula tri pačeta (21,43%), drugog dana kada su uginula dva pačeta (14,29%) dok je šestog dana uginulo jedno pače (7.14%). Prvog, petog kao i u intervalu od sedmog do desetog dana života pačića smrtnost nije zabeležena.



Grafikon 1. Prikaz smrtnosti pačića mandarinske vrste tokom prvih deset dana života



Grafikon 2.Prikaz broja ispitivanih pačića mandarinske vrste, prikaz nalaza retencije žumančane kesice, kao i pačića kod kojih su uočene promene na pupku.



Fotografija 1. A) Prikaz promene na pupku u vidu otvorenog pupka kod uginulog pačeta mandarinske vrste; B) Prikaz retencije žumančane kesice sa iniciranim krvnim sudovima.

DISKUSIJA

Retencija žumančane kesice se ubraja u najčešće patomorfološke promene žumančane kesice i jedan je od glavnih uzroka pojave smrtnosti plovuša (2). Ovo je dokazano i u ovom eksperimentu. Naime, žumančana kesica nije bila apsorbovana, odnosno retencija je uočena kod trinaest pačića (92,86%) od ukupno četrnaest pačića koji su bili obuhvaćeni eksperimentom.

Retencija i infekcija žumančane kesice navode se kao jedno od najznačajnijih oboljenja brojlerskih pilića tokom prve nedelje života. Ako bakterije prodru u žumančanu kesicu, imunološki sistem i antitela im se ne mogu suprotstaviti i uništiti ih, sve dok žumančana kesica ne bude u potpunosti vaskularizovana (16). Inicirani krvni sudovi koji su uočeni na obdukciji kod svih pačića sa retencijom žumančane kesice govore u prilog da je žumančana kesica ovih

pačića ipak bila vaskularizovana ali da je smrtni ishod svakako nastupio.

Patologija žumančane kesice uzrokuje ekonomske gubitke u živinarskoj industriji (17). U ovom eksperimentu zabeležena smrtnost kod pačića mandarinske vrste iznosi 25,45% što predstavlja značajan ekonomski gubitak u ovoj proizvodnji.

Retencija žumančane kesice može prouzrokovati stopu smrtnosti kod pilića od 5-10%, međutim stopa smrtnosti može biti povećana posebno kod pilića tokom prve nedelje života (18). Eksperimentom na pačićima mandarinske vrste utvrđena je značajno veća stopa smrtnosti koja je iznosila 25,45% u odnosu na rezultate ovih autora u eksperimentima sa pilićima.

Lezije ispitivanih pilića koji su uginuli kao posledica patologije žumančane kesice uključuju retenciju žumančane kesice, infekciju žumančane kesice sa promenom konzistencije i mirisa sadržaja, edematoznu žumančanu kesicu i zaprljanost regije pupka (19,20,21). Rezultati uočenih lezija u ovom eksperimentu koje je vršeno na pilićima slični su lezijama koje su pronađene na obdukciji uginulih pačića mandarinske vrste gde je retencija uočena kod 92,86% posmatranih pačića.

Kao uzrok retencije žumančane kesice navodi se kontaminacija pupčane vrpce odmah nakon izleganja pilića (14,22). Promene na pupku u vidu otvorenog pupka uočene su kod 28,57% pačića. U ovom eksperimentu sa pačićima mandarinske vrste nije bilo moguće isključiti kontaminaciju pupčane vrpce sa posledičnom pojavom retencije jer je izleganje pačića bilo u prirodnim uslovima gde kontaminaciju patogenim mikroorganizmima nije bilo moguće kontrolisati i sprečiti.

U bakteriološkom ispitivanju pet stotina žumančanih kesica pilića, kod 18% ispitivanih jedinki potvrđena je retencija koja je nastala kao posledica infekcije E.coli (23). Smrtnost kao posledica retencije žumančane kesice u eksperimentu sa mandarinskim pačićima je iznosila 92,86% što je mnogo više u poređenju sa uočenom smrtnošću kod pilića.

Nakon izvršene obdukcije pilića u starosti od prvog do sedmog dana života, dobijeni rezultati ukazuju da je kod 96.1% ispitivanih jedinki uočena retencija žumančane kesice (24). Smrtnost svih posmatranih mandarinskih pačića nastala je takođe u prvih šest dana života, dok je nalaz retencije žumančane kesice od 92,86% nešto manji u poređenju sa nalazom retencije žumančane kesice kod ispitivanih pilića.

ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da je retencija žumančane kesice bila dominantan patomorfološki nalaz kod pačića mandarinske vrste u ispitivanoj starosti. Nalaz promena na pupku u vidu otvorenog pupka i nekontrolisani higijenski uslovi samo su neki od faktora koji su doprineli nastanku infekcije sa posledičnom retencijom žumančane kesice i nastankom letalnog ishoda.

LITERATURA

1. *Ramnoff A.L. 160. The Avian Embryo, Mac Millan Company, New York, 1960.*
2. *Khan K.A., Khan S.A., Aslam A., Rabbani M., Tipu M.Y. Factors contributing to yolk retention in poultry: Pakistan Vet. J. 2004, 24(1).*
3. *Sharma N.K., Kaushik R.K. Surveillance of diseases of ducks. Indian J. Anim. Hlth. 1986, 25(1):1-5.*
4. *Roy S., Misra S.K. Common duck diseases and their control. Poult. Adviser 1989, 22(5):33-39.*
5. *Tully T.N., Martin P.C., Lawton G., Dorrestein M. Avian medicine. Oxford: Butterworth Heinemann; Linacre house, Jordan hill, Oxford, 2000.*
6. *Anjum A.D. Poultry Diseases, Vet Ag Publications, Faisalabad-Pakistan, 1997, pp 178-180.*

7. *Singh M.P., Gupta R.S., Singh S.P. Pathogencity of Escherichai coli isolated from colibacillosis in chicks and their antibiotic spectra.Indian J. Comparative Microbiol. Immunol. Infec. Dis. 1997, 18(2):142-146.*
8. *Dayamoy M., Santosh K.S. Omphalitis in ducklings with Staphylococcus aureus infection. Journal of Animal Research 2014, 4(2):217-222.*
9. *Kenny D., Cambre R.C. Vaccination of zoo birds agains avian botulism ith mink botulism vaccine. In: Am Assoc. Zoo Vet. Annual Proc. 1992, 383-5.*
10. *Deeming D.C. Possible effect of microbial infection on yolk utilization in ostrich chicks. Vet. Rec.1995, 136(11):270-271.*
11. *Prašović S., Beširović H., Šatrović E. Obdukciona tehnika i patomorfološka dijagnostika važnijih bolesti ptica. Alegra d.o.o., Sarajevo, 2003.*
12. *Jordan F.T.W. Poultry Diseases, 3rd Ed., ELBS and Bailliere Tindall, London, U.K., 1990, pp 40.*
13. *Fasenko G.M., O'Dea E.E. Evaluating Broiler Growth and Mortality in Chicks with Minor Navel Conditions at Hatching, Poultry Science , 87:594-597.*
14. *Holland G. Encyclopedia of aviculture, 197, Government of Canada, Hancock house publisher., Canada, 2007.*
15. *Milošević N., Perić L. Tehnologija živinarske proizvodnje. Univerzitete u Novom Sadu, Novi Sad, 2011.*
16. *Rad M., Esmailnejadn Z., Keleidar G. Identification of Gram Positive Bacteria Involved in Yolk Sac Infection, Acta Veterinaria Scandinavica 2003, 44 (Suppl1). P98.*
17. *Ulemr F. Yolk Sac Infections in Broiler Chicks: Studies on Escherichia coli, Chick Acquired Immunity and Barn Microbiology, PhD thesis, Universiti of Alberta Edmonton , Alberta, 2011.*
18. *Rahman M., Rahman A.Z., Islam M.S. Bacterial diseases of poultry prevailing in Bangaldesh, Journal of Poultry Science 2007, 1(1):1-6.*
19. *Ahmed M.S., Sarker A., Rahman M.M. Prevalence of infectious diseases of broiler chickens in Gazipur district, Bangladesh, Journal of Veterinary Medicine 2009, 7:326-331.*
20. *Sainsbury D. Poultry Health and Management, 3rd Ed., Blackwell Scientific Publications, London,U.K. 1992.*
21. *Shil G.C., Ehsan M.A, Rahman M.S, Anower Akmm, Islam M.R. Diseases Associated with Mortality and Pathological Changes in Cockerel Birds, Banglades Jurnal of Veterinary Medicine 2003, 1:33-39.*
22. *Zahdeh A.H. Studies on the problem of omphalitis in baby chicks: Role of Escherichia coli J. Egypt Vet. Med. Assoc. 1987, 47(1/2):511-519.*
23. *Eman M.. Farghaly H., Badr H., Nahla S., Soad A., Roshdy H. Yolk sac infection in duckling with Escherichia coli with reference to its virulencegens, 3rd Conf. of Sci. Assoc. of An. Health Res. Inst., 10, 2016, pp 256-266.*
24. *Melese K., Esatu W., Abayneh T. Isolation and characterization of bacteria associated with yolk sac infection (Omphalitis) in chicken from three hatcheries in Bishoftu, Ethiopia. African Journal of Microbiology Research 2017, 11(43):1551-1557.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 618.19-002
Radinović et al., pp 127-132

UTICAJ UZROČNIKA MASTITISA NA PROIZVODNJU MLEKA KOD KRAVA

INFLUENCE OF CAUSES OF MASTITIS ON MILK PRODUCTION IN COWS

Miodrag Radinović[a*], Ivana Davidov[a], Zorana Kovačević[a], AnnaMaria Galfi[a], Marija Pajić[a], Mihajlo Erdeljan[a], Jovan Stanojević[a]

[a]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Srbija*
[a]*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine, Serbia*
[*]*autor za kontakt: radinovic@polj.uns.ac.rs*

SAŽETAK

Mastitisi predstavljaju, u savremenom govedarstvu, jedan od najvažnijih zdravstvenih problema kod muznih krava. Pored zdravstvenog aspekta i očiglednog uticaja na dobrobit životinja mastitisi se ubrajaju u najveće finansijske troškove na farmi krava zbog troškova same terapije i odbačenog mleka zbog karence kao i trajno smanjene proizvodnje mleka ili potpunog prekida laktacije kod teških formi mastisa. Ovome treba dodati i trošak nastao zbog mogućih uginuća ili preranog izlučenja krava iz proizvodnje.U radu je ispitan uticaj infekcije vimena patogenima i saprofitima na proizvodnju mleka. Ogled je sproveden na dve farme muznih krava sa različitim bakteriološkim nalazom iz uzoraka mleka. Za bakteriološka ispitivanja korišćeni su aseptično uzeti uzorci mleka koji su ispitani u laboratoriji za mikrobiologiju. Količina mleka je merena pomoću trutestera postavljenih na muznu jedinicu. Na obe farme je najveća proizvodnja mleka bila kod krava sa negativnim bakteriološkim nalazom a najmanja kod krava sa izolovanim patogenima iz vimena. Prisustvo saprofita je pokazalo manji uticaj na proizvodnju mleka.

Ključne reči:krava, patogeni, proizvodnja mleka.

ABSTRACT

Mastitis is, in modern cattle breeding, one of the most important health problems for dairy cows. In addition to the health aspect and the obvious impact on animal welfare, mastitis is one of the largest financial costs of a cow farm due to the cost of the therapy itself and the rejected milk due to the withdrawal period, as well as permanently reduced milk production or complete cessation of lactation in severe forms of mastitis. To this should be added the cost of possible deaths or premature excretion of cows from production. The experiment was conducted on two dairy farms with different bacteriological findings from milk samples. For bacteriological tests, aseptically collected milk samples were tested in a microbiology laboratory. The amount of milk was measured using true-testers mounted on the milking unit. On both farms, the highest milk production was in cows with a negative bacteriological finding and the lowest in cows with isolated udder pathogens. The presence of saprophytes showed a smaller impact on milk production.

Key words: cow, pathogens, milk production.

UVOD

Zdravstveni status krava na farmama za proizvodnju mleka u velikoj meri definiše patologija mlečne žlezde, kroz kliničke i subkliničke forme zapaljenja i promene u sastavu i količini mleka, odnosno sekreta mlečne žlezde. Ovakve promene nanose velike ekonomske gubitke. U cilju smanjenja gubitaka usled mastitisa na farmama se inplementiraju programi kontrole (1,8). Programi kontrole mastitisa se u najvećoj meri oslanjaju na strogu higijenu muže i smeštaja i na primenu antibiotske terapije u zasušenju ili u toku laktacije. Takođe je bitna redovna kontrola poremećaja sekrecije vimena koji se klinički ne ispoljavaju i zbog toga ih je teže dijagnostikovati. Bez obzira na različite pristupe u različitim uslovima proizvodnje većina programa predviđa terapiju kliničkih mastitisa u fazi laktacije a subkliničkih u fazi zasušenja. Proizvodnja i kvalitet mleka visokoproduktivnih krava zavise, u najvećoj meri od stadijuma laktacije, zdravlja mlečne žlezde i uslova smeštaja i ishrane (3). Neadekvatni uslovi držanja i neodgovarajuća muža su preduslov za nastajanje infekcija vimena. Zavisno od toga da li su infekcije vimena izazvane patogenima vimena ili bakterijama iz okruženjadolazi u većoj ili manjoj meri do promene sastava i količine izlučenog mleka (6). Gubici u proizvodnji mleka kod krava inficiranim patogenima vimena znatno su veći u početnoj fazi laktacije kada je i inače veća proizvodnja mleka (2) nego u kasnijim fazama laktacije kada fiziološki dolazi do smanjenja količine mleka. U zbirnim uzorcima mleka krava od patogena vimena najveći značaj Stahylococcus aureus i Streptococcus agalactiae. Navedeni mikroorganizmi dovode do poremećaja sekrecije vimena i to najčešće kao subklinički mastitisi koji dugo traju i mogu zahvatiti veliki procenat životinja u zapatu jer se prilikom muže lako prenose sa inficiranih na neinficirane četvrti. Često ove infekcije traju i tokom nekoliko uzastopnih laktacija i dovode do trajnog oštećenja parenhima vimena i trajno smanjene količine mleka. Postojanje infekcije vimena i subkliničkog mastitisa utiče znatno na smanjenje produkcije mleka kod krava tako da je prosečna dnevna mlečnost kod obolelih krava znatno niža od prosečne po kravi. Bakterije iz okruženja, a pre svih koagulaza negativne stafilokoke najčešće izazivaju kliničke mastitise sa jasno uočljivim promenama na vimenu koji se lako dijagnostikuju i terapiraju (10, 12). Infekcija nastaje u periodu između dve muže i nastanku infekcije doprinosi loša higijena smeštaja životinja. Ove infekcije imaju manji uticaj na količinu proizvedenog mleka i dugoročno na kvalitet sabirnog mleka. Krave sa negativnim bakteriološkim nalazom iz vimena imaju funkcionalan parenhim i zbog toga u pravilu veću proizvodnju od prosečne u zapatu.

MATERIJAL I METOD

Ogled je sproveden na dve farme mlečnih krava holštajn-frizijske rase. Na prvoj farmi (farma A) je bilo 17 krava u ogledu a na drugoj farmi (farma B) 18 krava. Kod svih krava pristupilo se merenju količine mleka i bakteriološkom pregledu uzoraka mleka. Uređene su dve kontrole u razmaku od dve nedelje. Za merenje količine mleka korišćeni su trutesteri koji se postavljaju na muznu jedinicu i omogućavaju merenje količine mleka sa priciznošću od 0,1 L. Merenje količine mleka se vršilo za vreme jutarnje i večernje muže istog dana. Za bakteriološka ispitivanja uzimani su aseptično uzorci mleka za vreme jutarnje muže, pre stavljanja muzne jedinice a nakon pranja vimena i izmuzanja prvih mlazeva mleka. Prva faza je dezinfekcija vrha papile ubrusom od vate natopljene u 96% alkohol. Dezinfekcija se vrši tako sto se vrh papile fiksira palcem i kažiprstom jedne ruke a drugom se snažnim pokretima briše vrh papile. Zatim se pristupa samom uzimanju uzoraka tako što se sterilna epruveta sa poklopcem uzima u ruku a drugom rukom se vrši izmuzanje nekoliko mlazeva mleka iz

svake četvrti u epruvetu pri tom pazeći da ne dođe do kontakta vrha papile i epruvete. Uzorci za bakteriološka ispitivanja obrađivani su u laboratoriji za higijenu mleku Departmana za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta.

REZULTATI

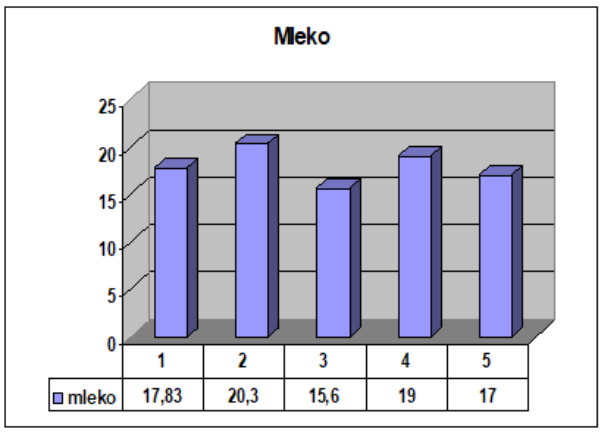
Ukupno je bakterioliološki pregledano 35 zbirnih uzoraka mleka poreklom sa obe ispitivane farme. Bakteriološkim ispitivanjem uzoraka mleka sa farme A dobijeni su rezultati prikazani u tabeli 1. Iz tabele 1 se oučava da je obradom zbirnih uzoraka mleka sa farme A u najvećem broju uzoraka dokazano prisustvo *Staphylococcus aureus* a negativan bakteriološki nalaz je bio u tri uzorka mleka. Iz tabele 2 se oučava da je obradom zbirnih uzoraka mleka sa farme B utvrđen u najvećem broju uzoraka negativan bakteriološki nalaz a kod malog broja krava su izolovani patogeni vimena. Sa izolovanim patogenima iz okruženja, gde se ubrajaju koagulaza negativne stafilokoke i neagalaktične streptokoke bilo je 5 uzoraka. Saprofitska mikroflora koju čine mikrokoke i *Corynebacterium bovis* je izolovana u 5 zbirnih uzoraka mleka krava. Iz dijagrama 1 se može uočiti da su krave sa negativnim bakteriološkim nalazom iz vimena imale proizvodnju mleka veću od prosečne na farmi a krave sa izolovanim patogenima iz vimena proizvodnju ispod proseka zapata. Iz dijagrama 2 se uočava da su krave sa negativnim bakteriološkim nalazom iz vimena imale proizvodnju mleka veću od prosečne na farmi.

Tabela 1. Bakterioloski nalaz iz zbirnih uzoraka mleka krava sa farme A

Z B I R N I U Z O R C I M L E K A		
bakteriološki pregledano zbirnih uzoraka mleka	17	100%
bakterioloski negativno	3	17,6%
Staphylococcus aureus	11	64,7%
Streptococcus agalactiae	2	11,7%
Streptococcus agalactiae + Staphylococcus aureus	1	5,8%

Tabela 2. Bakterioloski nalaz iz zbirnih uzoraka mleka krava sa farme B

U Z O R C I M L E K A		
bakteriološki pregledano zbirnih uzoraka mleka	18	100%
bakterioloski negativno	6	33,3%
Streptococccus agalactiae + Staphylococcus aureus	2	11,1%
neagalakticne streptokoke	5	27,8%
Corynebacterium bovis	3	16,6%
mikrokoke	2	11,1%



1 prosečna dnevna proizvodnja mleka po kravi na farmi

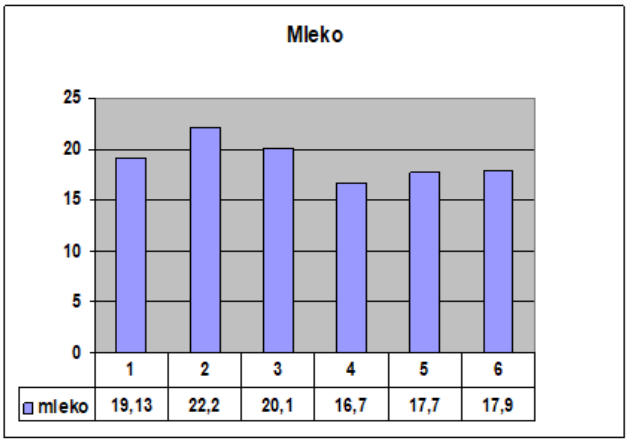
2 krave sa negativnim bakteriološkim nalazom

3 krave sa izolovanim Staphylococcus aureus u zbirnom mleku

4 krave sa izolovanim Streptococcus agalactiae u zbirnom mleku

5 krave sa izolovanim Streptococcus agalactiae i Staphylococcus aureus u zbirnom mleku

Dijagram 1. Prosečna dnevna proizvodnja mleka po kravi prema rezultatima bakteriološkog nalaza na farmi A



1 prosečna dnevna proizvodnja mleka po kravi na farmi

2 krave sa negativnim bakteriološkim nalazom

3 krave sa izolovanim Streptococcus agalactiae i Staphylococcus aureus u zbirnom mleku

4 krave sa izolovanim neagalaktičkim streptokokama u zbirnom mleku

5 krave sa izolovanim Corynebacterium bovis u zbirnom mleku

6 krave sa izolovanim mikrokokama u zbirnom mleku

Dijagram 2. Prosečna dnevna proizvodnja mleka po kravi prema rezultatima bakteriološkog nalaza na farmi B.

DISKUSIJA

Proizvodnja mleka na farmama muznih krava je izložena dejstvu velikog broja faktora vezano za samu životinju kao i faktora spoljne sredine. Količina i kvalitet proizvedenog mleka su direktno zavisni od prisustva infekcija vimena i njihovog uticaja na parenhim (7, 15). Životinje kod kojih je očuvan parenhin vimena mogu u potpunosti da ispolje svoju genetsku predispoziciju za proizvodnju mleka. Životinje sa intramamarnim infekcijama različitim uzročnicima imaju u manjoj ili većoj meri oštećen parenhim vimena i ovo utiče na količinu proizvedenog mleka i često je kod njih trajno smanjena proizvodnja mleka. Rezultati dijagrama 1 pokazuju varijacije u prosečnoj dnevnoj proizvodnji mleka, zavisno od rezultata bakterioloskog nalaza na farmi A. Najveća prosečna dnevna mlečnost bila je kod krava sa negativnim bakterioloskim nalazom zbirnog mleka iz vimena i iznosila je 20,3 kg, a najmanja kod krava sa izolovanim *Staphylococcus aureus* u zbirnom mleku i iznosila je 15,6 kg što odgovara rezultatima koje su dobili Reksen i saradnici 2007 godine, koji tvrde da intramamarna infekcija sa *Staphylococcus aureus* dovodi do smanjenja u proizvodnji mleka u krave. Kod krava sa dokazanim *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae* proizvodnja mleka je bila manja nego kod krava sa izolavanim samo *Streptococcus agalactiae*. Dijagram 2 pokazuje prosecnu proizvodnju mleka kod

krava sa različitim bakterioloskim nalazom na farmi B. Najveca je prosecna dnevna kolicina mleka kod krava bez izolovane mikroflore iz zbirnih uzoraka i iznosila je 22,2 kg, a najmanja je kod krava sa izolovanim neagalaktičnim streptokokama i iznosila je 16,7, ovakav nalaz je u skladu sa navodima (5, 20). Na farmi B iz pojedinih uzoraka mleka je izolovana i saprofitska mikroflora koju čine mikrokoke i korinebakterije a proizvodnja mleka kod ovih krava je bila veća nego kod krava sa izolovanim streptokokama. Za razliku od farme A kod krava sa farme B je zabeležena visoka proizvodnja mleka kod krava inficiranih sa primarnim patogenima i iznosila je 20,1 kg. Dobijeni rezultati bakterioloskog nalaza kada je u pitanju saprofitska mikroflora (mikrokoke i *C. bovis*) ukazuju da navedeni mikroorganizmi ne iritiraju mlečnu žlezdu krava (4), na šta ukazuju i rezultati proizvodnje mleka po kravi. Na obe ispitivane farme najveća proizvodnja mleka je bila kod krava sa negativnim bakteriološkim nalazom što je u skladu sa navodima Rajala-Schultz i saradnici (1999.)

ZAKLJUČAK

Prisustvo intramamarne infekcije utiče na prozvodnju mleka kod krava. Na osnovu rezultata sa obe ispitivane farme može se zaključiti da je najveća proizvodnja mleka bila kod krava bez dokazane intramamarne infekcije. Kod krava sa izolovanim saprofitima i patogenima iz uzorka mleka izmerena je manja dnevna proizvodnja mleka u odnosu na neinficirane. Od primarnih patogena veći uticaj na proizvodnju mleka imao je *Staphylococcus aureus*.

LITERATURA

1. *Bennedsgaard T.W., Enevoldsen C., Thamsborg, S.M., Vaarst M. Effect of Mastitis Treatment and Somatic Cell Count On Milk Yield in Danish Organic Dairy Cows. J Dairy Sci 2003, 86:3174-3183.*
2. *Green M.J., Green L.E., Schukken Y.H., Bradley A.J., Peeler E.J., Barkema H.W., de Haas, Y., Collis, V.J., Medley G.F. Somatic Cell Count Distributions During Lactation Predict Clinical Mastitis. J Dairy Sci 2004, 87:1256-1264.*
3. *Gröhn Y.T., Wilson D.J., González R.N., Hertl J.A., Schulte H., Bennet G., Schukken Y.H. Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. J Dairy Sci 2004, 87:3358-3374.*
4. *Jayarao B.M., Pillai S.R.,. Sawant A.A., Wolfgang D.R.H. Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts. J Dairy Sci 2004, 87:3561-3573.*
5. *Lievaart J.J., Barkema H.W., Kremer W.D.J.J. van den Broek M., Verheijden J.H.M., Heesterbeek J. A.P. Effect of Herd Characteristics, Management Practices, and Season on Different Categories of the Herd Somatic Cell Count. J Dairy Sci 2007, 90:4137-4144.*
6. *Izquierdo A.C., Liera J.G., Cervantes R.E., Castro J.F., Mancera E.A., Crispín R.H., Mosqueda L.J., Vázquez A.G., Pérez J.O., Aparicio P.S., Rodriguez B.E. Production of Milk and Bovine Mastitis. J Adv Dairy Res 2017, 5:174.*
7. *Cruz E.J. Health of the udder. The Importance of Mastitis Control. Entorno Ganadero 2015, 71:32-36.*
8. *Lam T.J., Ruegg P.L., McDougall S. Good veterinary practices for udder health: what to do, what not to do and opportunities. Albéitar 2009,125:6-8.*
9. *Van Soest F.J.S., Santman-Berends I., Lam T., Hogeveen H. Failure and preventive costs of mastitis on Dutch dairy farms. J Dairy Sci 2016, 99(10):8365–74.*
10. *Aghamohammadi M., Haine D.,. Kelton D., Barkema H., Hogeveen H., Keefe G., Dufour S.F. Herd-Level Mastitis-Associated Costs on Canadian Dairy Farms. Front Vet Sci 2018, doi: 10.3389/fvets.2018.00100.*
11. *Rajala-Schultz P.J., Gröhn Y.T., McCulloch C.E., Guard C.L. Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. J Dairy Sci 1999, 82:1213-1220.*

12. *Boboš S., Radinović M., Pajić M., Mihajlović-Ukropina M., Mašić Z., Galfi A. Reservoirs of primary and secondary udder pathogens of cows in intensive diary production, International symposium on animal Science 2012, 773-777.*
13. *Boboš S., Vidić B. Mlečna žlezda preživara, morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005.*
14. *Bačić G. Dijagnostika i liječenje mastitisa u goveda. Zagreb, 2009.*
15. *Radinović M., Davidov I., Erdeljan M., Pajić M., Boboš S. Effect of udder infection with various microorganisms on milk production in cows. International Symposium "New Technologies in Contemporary Animal Production", 2013, 100-102.*
16. *Radinović M., Boboš S., Davidov I., Nešić M. Comparative analysis of somatic cells count in milk samples during winter and summer period, European buiatrics congress, Pula, 2011.*
17. *Radinović M., Boboš S., Nešić M., Mihajlović – Ukropina M., Kujača V. Nalaz streptococcus agalactiae u vimenu krava, mere kontrole i eradikacije. Savremena poljoprivreda 2009, 58 (1-2): 136-140.*
18. *Katić V., Boboš S., Jurca J. Značaj preventivnih mera u suzbijanju mastitisa. Veterinaski glasnik 1990, 299-308.*
19. *Boboš, S., Plavšić, M. Tehnologija držanja visoko-produktivnih krava kao preduslov za dobijanje zdravstveno bezbednog i kvalitetnog mleka. Veterinarski glasnik 2005, 59(1-2):189-99.*
20. *Sampimon O.C., Barkema H.W., Berebds I., Sol J., Lam T. Prevalence of intramammary infection in Dutch dairy herds. J. Dairy Res 2009,76(2):129-36.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 636.5
Ružić et al., pp 133-139

RAZVOJ VASKULARNE MREŽE HORIOALANTOISNE MEMBRANE KOD TOVNIH PILIĆA I NJEN ZNAČAJ U BIOMEDICINSKIM ISTRAŽIVANJIMA

DEVELOPMENT OF THE VASCULAR SYSTEM OF THE CHORIOALLANTOIC MEMBRANE IN BROILER CHICKENS AND ITS IMPORTANCE IN BIOMEDICAL RESEARCH

Zoran Ružić[a*], Zdenko Kanački[a], Slobodan Stojanović[a], Srđan Todorović[a]

[a]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija*
[a]*University of Novi Sad, Faculty of Novi Sad, Department of veterinary medicine, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija*
**mail: ruzicvet@gmail.com; kontakt telefon: 0214853320*

SAŽETAK

Horioalantoisna membrana (CAM) je jednostavna, dobro vaskularizovana ekstraebrionalna membrana, koja ima višestruku funkciju tokom embrionalnog razvoja, uključujući razmenu gasova. Cilj ovog rada je da se ispita razvoj vaskularne mreže CAM nakon završetka njenog rasta. U ovom istraživanju korišćeno je 75 oplođenih jaja teškog hibrida „Ross 308“. Uzorkovanje CAM za stereološke analize vršeno je 12., 15. i 19. dana emrionalnog razvoja. Rezultati u našoj studiji ukazuju da se sa povećanjem embrionalne starosti povećava i indeks prokrvljenosti koji je ujedno pokazatelj angiogenetskih procesa koji se odvijaju u CAM. Prvog dana uzorkovanja, dvanaestog embrionalnog dana (E12) zabeležena je najmanja vrednost za indeks prokrvljenosti (0,196), dok je najveća vrednost (0,275) zabeležena poslednjeg dana uzorkovanja (E19). Može se zaključiti da se sa povećanjem embrionalne starosti povećava i indeks prokrvljenosti, odnosno vaskularna mreža CAM zauzima sve veću površinu u odnosu na ukupnu površinu CAM.

Ključne reči: horioalantoisna membrana, tovni pilići, angiogenetske studije.

ABSTRACT

The chicken chorioallantoic membrane (CAM) is a simple, highly vascularized extraembryonic membrane, which performs multiple functions during embryonic development, including gas exchange. This study aimed to investigate the development of blood vessels after growth of CAM is complete. The present research included 75 fertilized eggs of heavy hybrid "Ross 308". CAM sampling for stereological analyses was performed at 12th, 15th and 19th day. The results of the present investigation show that the increase in embryonic age results in an increase in circulation index which is also an indicator of angiogenic processes developing in CAM. On the first sampling day (E12) the lowest value of circulation index was recorded (0.196), while the highest value (0.275) was recorded on the

last sampling day (E19). It can be concluded that as the embryonic development progresses, the circulation index increases, i.e. the CAM vascular system is extended to a larger surface when compared to the entire CAM surface after growth of CAM is completed.

Key words: chorioallantoic membrane, broiler chickens, angiogenic studies.

UVOD

Dobri rezultati u živinarstvu odraz su ne samo dobrog postnatalnog menadžmenta, već i menadžmenta u prenatalnom periodu. Veoma je bitno optimizovati period inkubacije, koji predstavlja bitnu fazu celokupnog porasta (1). Faktori inkubacije koji utiču na kvalitet pilića su temperatura, vlažnost vazduha, okretanje jaja, koncentracija pojedinih gasova (2), a prema novijim saznanjima i primena određene vrste svetlosti (3). Veliki broj faktora koji regulišu embrionalni razvoj mogli bi se iskoristiti kako bi se ovaj period bolje optimizovao. Na primer, povećanje koncentracije CO_2 u ranom periodu inkubacije utiče na telesnu masu pilića, vreme izleganja, kao i na angiogenezu u horioalantoisnoj membrani (CAM) (4,5). Kako je CAM organ zadužen za razmenu gasova, razlika u angiogenezi može imati bitan uticaj na metabolizam embriona i posledično na rast embriona i kasnije proizvodne osobine u postnatalnom dobu. Shodno tome, angiogeneza u CAM se može iskoristiti u svrhu monitoringa razvoja pilećeg embriona usled optimizacije pojedinih faktora inkubacije.

CAM je jednostavna, dobro vaskularizovana ekstraembrionalna membrana, koja ima višestruku fuknkciju tokom embrionalnog razvoja. Poslednjih godina, interesovanje za
CAM kao eksperimentalne metode za istraživnje krvnih sudova veoma je popularno među istraživačima koji se bave bioinženjeringom, morfologijom, biohemijom, transplatacionom biologijom, istraživačima u oblasti kancera i farmaceutskih preparata (6,7).
CAM pilećeg embriona počinje da se formira 3. dana embrionalnog razvoja a svoju potpunu diferencijaciju dostiže 10. dana embrionalnog razvoja (E3-E10). CAM nastaje kada se spoljašnji sloj mezoderma alantoisne membrane (visceralni mezoderm) fuzioniše sa mezodermnim slojem horionske membrane (somatski mezoderm). U tom dvosloju razvija se izuzetno bogata mreža krvih sudova, koja je povezana sa embrionalnom cirkulacijom sa dve alantoisne arterije i jednom alantoisnom venom (8). Uloga CAM je razmena gasova između embriona i atmosfere i na taj način CAM preuzima funkciju pluća tokom embrionalnog razvoja (9). Alantois služi kao rezervoar za sintetisane štetne produkte u embrionu, prvenstveno za ureu, a kasnije i mokraćnu kiselinu (8). Dodatno, CAM je uključena u transport natrijuma i hlora iz alantoisne šupljine, gde se razlažu urinarni produkti a i ima esencijalnu ulogu u osteosintezi, jer provodi kalcijum od ljuske jajeta do embriona (10).

Razvoj CAM ima sličnosti sa razvojem alantoisne membrane kod sisara jer se proteže ekstraembrionalno iz ventralnog zida endodermalnog zadnjeg creva (11). Međutim, kod ptica se dodatno fuzioniše sa horionom kako bi se se formirala ova membrana. U početku je ova membrana avaskularizovana, međutim ubrzo posle njenog nastanka razvija se bogat vaskularni pleksus (6). Iako ova membrana služi prvenstveno kao respiratorni organ, najveća pažnja je usmerena ka vaskularnom sistemu. Takođe je zapaženo da CAM poseduje u potpunosti razvijen limfatični sistem koji poseduje funkcionalne i molekularne sličnosti sa limfnim sistemom kod sisara (6), što takođe može biti značajno u istraživanjima.

Vezivanje CAM za unutrašnji sloj ljuske jajeta odvija se ubrzo nakon fertilizacije (E4-E5) i zbog toga otvaranje oplođenog jajeta radi kultivacije, u svrhu naučnih istraživanja, se mora uraditi do 3.

dana embrionalne starosti (E3). Nakon ovog perioda ruptura ljuske dovodi do pucanja CAM. Ukoliko se ogledi odvijaju na samom jajetu, bez vađenja iz ljuske, postoji mogućnost i kasnije da se otvori rupa na ljusci, tj. pravljenje "prozora", pazeći pri tome da se ne oštete krvni sudovi CAM.
Vidljivost, pristupačnost i brz razvoj CAM čine prednosti koje su omogućile da se ova struktura koristi kao model za različita ispitivanja. CAM se nalazi u širokoj upotrebi u angiogenetskim studijama, studijama o ispitivanju rasta tumora i metastaziranjima, kao i farmakološkim i toksikološkim ispitivanjima. Takođe još jedna bitna prednost ovog modela je njegova niska cena i to što su ogledi na njima etički prihvatljiviji nego na adultnim oblicima. Nedostatci koji prate ovaj model za istraživanja jeste to da su pojedini reagensi limitirani jer nisu predviđeni za ptice. Takođe postoje razlike u metabolizmu lekova u poređenju sa sisarima. Međutim ukoliko se porede animalni modeli i CAM kao model istraživanja, bitno je istaći da je cena jednog oplođenog jajeta 100 puta niža od jednog miša koji je uzgajan za ovakve svrhe.

Cilj ovog rada je da se ispita razvoj vaskularne mreže CAM u pojedinim danima embrionalnog razvoja (E12, E15 i E19), kako bi se utvrdilo da li vaskularna mreža nastavlja da se razvija i nakon završetka rasta CAM što se podudara sa 10. danom embrionalno razvoja (E10).

MATERIJAL I METODE

U ovom istraživanju korišćeno je 75 oplođenih jaja teškog hibrida „Ross 308" dobijenih od roditeljskog jata starosti 54 nedelje. Korišćen je inkubator kapaciteta 75 jaja. Temperatura inkubacije iznosila je 37.9°C u trajanju celog embrionalnog razvoja, a regulisana je uz pomoć električnog termostata „Termoregulator ET-01" proizvođača „Pro-Elektro", Novi Sad, Srbija. Relativna vlažnost vazduha je održavana od 50% do 60% do 18. dana embrionalnog razvoja, odnosno do 75% od 19. dana embrionalnog razvoja pa do kraja inkubiranja. Ventilacija je bila prilagođena odgovarajućoj fazi embrionalnog razvoja.
Uzorkovanje jaja radi dobijanja CAM za stereološke analize vršeno je metodom slučajnog uzorka. U toku 12., 15. i 19. dana emrionalnog razvoja uzeto je po 10 jaja. U svim izabranim jajima nalazili su se vitalni embrioni sa razvijenom CAM, koja je obuhvatala ceo embrion.

Od uzetih jaja 12., 15. i 19. dana pristupilo se skidanju ljuske jajeta kako bi se preparisala CAM. Preparacija CAM je vršena pažljivim manuelnim skidanjem ljuske kako ne bi došlo do oštećenja krvnih sudova u CAM. Mreža krvnih sudova CAM embriona je fotografisana digitalnim aparatom „Panasonic Lumix DMC-LS80", Japan. Slike su zatim stereološki obrađene u programu Scion Image 4.0, Scion Corporation, na osnovu čega je izvršeno preračunavanje indeksa prokrvljenosti svakog uzorka pomoću višenamenskog test sistema M42 (12). Prilikom fotografisanja, analiziran je uvek isti deo i ista površina CAM kako bi se eliminisala greška usled različite prokrvljenosti pojedinih delova CAM.

Indeks prokrvljenosti je izračunat po sledećem obrascu: Ip=P(ks)/P(cam); gde je: Ip-Indeks prokrvljenosti; P(ks)- Ukupan broj testnih tačaka koje padaju na krvne sudove CAM; P(cam)- Ukupan broj testnih tačaka koje padaju na CAM.

Indeks prokrvljenosti u radu prikazan je kao srednja vrednost uz prikazanu varijansu. Statistička obrada vršena je primenom programskog paketa Microsoft Office 2013. Analiza varijanse vršena je primenom F-testa, dok je poređenje prosečnih vrednosti između različitih dana za indeks prokrvljenosti CAM vršeno primenom Studentovog t-testa i istaknuta je statistička značajnost na nivou $P < 0,05$.

REZULTATI

Nakon stereološke obrade fotografija i preračunavanja putem formule, dobijene su vrednosti za indeks prokrvljenosti CAM, što je i prikazano u Tabeli 1. Indeks

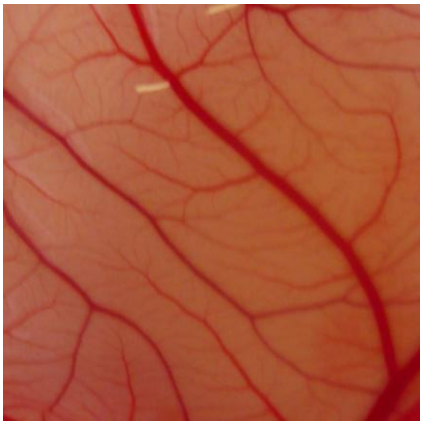
prokrvljenosti izražen je kao prosečna vrednost i prikazan je za ispitivane dane embrionalnog razvoja. Najmanja vrednost indeksa prokrvljenosti može se zapaziti u 12. danu embrionalnog razvoja (E12), a nasuprot tome najveća vrednost 19. dana embrionalnog razvoja (E19). Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da sa povećanjem embrionalne starosti povećava se i indeks prokrvljenosti, odnosno vaskularna mreža CAM zauzima sve veću površinu u odnosu na ukupnu površinu CAM. Primenom statističke analize utvrđeno je da je postojala statistički značajna razlika u vrednostima za indeks prokrvljenosti između svih ispitivanih dana. 15. dana embrionalnog razvoja vaskularna mreža se uvećala za 11,24 %, dok se između 15. i 19. dana ova struktura uvećala za 26,15 %. Izgled mreže krvnih sudova CAM u danima embrionalnog razvoja u kojima je vršena analiza prikazan je na slikama 1-3.

Tabela 1. Indeks prokrvljenosti CAM

Vreme uzorkovanja	Indeks prokrvljenosti CAM	
	Srednja vrednost	Varijansa
E12	0,196 a	0,0015
E15	0,218 b	0,0010
E19	0,275 c	0,0029

Različita slova u superskriptu obeležavaju statistički značajnu razliku na nivou $P < 0,05$

Slika 1. Prikaz mreže krvnih sudova 12. dana embrionalnog razvoja



Slika 2. Prikaz mreže krvnih sudova 15. dana embrionalnog razvoja

Slika 3. Prikaz mreže krvnih sudova 19. dana embrionalnog razvoja

DISKUSIJA

Morfometrijska ispitivanja CAM u studiji De Fouw i saradnika (13) dokazala su da CAM rapidno povećava svoju površinu sa 6 cm^2, koliko iznosi 6. dana embrionalnog razvoja, na 65 cm^2, 14. dana embrionalnog razvoja. Ovako intezivno povećanje površine prati i visok angoiogenetski odgovor, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Odnosno sa povećanjem embrionalne starosti, povećava se i indeks prokrvljenosti, koji je pokazatelj prokrvljenosti CAM. Angiogeneza CAM odvija se posredstvom dva mehanizma. U prvom delu inkubacije veliki broj kapilara se račva invadirajući mezenhim, zatim se fuzionišu i grade primarni kapilarni pleksus. U toku drugog dela inkubacije, račvanje više nije prisutno, već je zamenjeno intususpektivnim mikrovaskularnim rastom (IMG) koji daje bogatu mrežu kapilarnih sudova (14).

Razvoj CAM prema Makanya i saradnicima (15) možemo podeliti u 3 faze na osnovu alometrijskih analiza. Prva faza je između 8. i 13. dana embrionalnog razvoja i karakteriše se rapidnom proliferacijom i rastom CAM. Upravo u ovoj fazi je uzet naš prvi uzorak za određivanje indeksa prokrvljenosti CAM, odnosno 12. embrionalnog dana i on je iznosio 0,196. U ovoj fazi, Ribatti (8) smatra da je endogeni fibroblasni faktor rasta 2 (FGF-2) veoma bitan za razvoj krvnih sudova CAM i da se njegova povećana vrednost može zapaziti između 6. i 18. dana inkubacije. Maksimalne vrednosti koncentracije ovog faktora zapažaju se između 10. i 14. dana embrionalnog razvoja, što se takođe poklapa sa momentom našeg prvog uzorkovanja CAM za stereološka ispitivanja. Baum i sar. (16) navode značajnost još jednog faktora - vaskularni endotelni faktor-A (VEGF-A), kod koga možemo zapaziti dva pika 8 - 9. i 11 - 12. dana embrionalnog razvoja.

Druga faza prema Makanya i saradnicima (15) započinje 13. dana i traje sve do 18. dana embrionalnog razvoja. U ovoj fazi u još većoj meri dolazi do procesa diferencijacije, rasta i ekspanzije svih delova CAM, i svoj pik ova faza dostiže 18. dana embrionalnog razvoja. Rezultati dobijeni u našoj studiji za 15. dan embrionalnog razvoja spadaju u ovu fazu i može se primetiti da je vrednost za indeks prokrvljenosti veći u odnosu na 12. dan embrionalnog razvoja za 11,24 %, na nivou statističke značajnosti od $P < 0.05$. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa razvojnim fazama prema Makanya i saradnicima (15).

Faza 3 traje od 18. dana inkubacije i traje do izleganja. Ovu fazu karakteriše regresija i degeneracija CAM. Naši rezultati za indeks prokrvljenosti dobijeni prilikom poslednjeg uzorkovanja spadaju u ovu treću fazu razvoja CAM i može se primetiti da je indeks prokrvljenosti veći 19. dana embrionalnog razvoja u odnosu na 12. dan i u poređenju sa 15. danom embrionalnog

razvoja, sa statističkom značajnošću ($P < 0.05$). U poređenju sa E15 nastupilo je povećanje vaskularne mreže za 26,15 %. Mogući razlog za ovakve rezultate mogao bi biti da ne dolazi do regresije i degeneracije krvnih sudova CAM, kao što je to slučaj sa stromalnim komponentama mezoderma i epitelom horiona i alantoisa, već dolazi do očuvanosti krvih sudova ili pak pojačane angiogeneze. Drugo moguće objašnjenje bilo bi da 18. dana embrionalnog razvoja dolazi do pika angiogeneze, a da nakon toga postepeno dolazi do regresije, što bi mogla biti verovatnija teorija jer se embrion postepeno priprema za izleganje. Naime, neposredno pre izleganja embrion kljunom probija vazdušnu kesu i tada dolazi do aktivacije respiratorne funkcije posredstvom pluća, odnosno CAM gubi svoju funkciju u razmeni gasova (internal pipping). Makanyna i saradnici (15) u svojoj studiji primećuju povećan stepen apoptoze kako u epitelu horiona, tako i u epitelu alantoisa 18. dana embrionalnog razvoja, ali su takođe primećene i apoptotične ćelije u mezenhimu CAM. Ovakvu tvrdnju da dolazi do regresije i degeneracije krvnih sudova u ovoj fazi, ne možemo sa sigurnošću tvrditi iz rezultata dobijenih u našoj studiji, jer 18. dana embrionalnog razvoja nije vršeno uzorkovanje CAM.

ZAKLJUČAK

Rezultati u našoj studiji ukazuju da se sa povećanjem embrionalne starosti povećava i indeks prokrvljenosti koji je ujedno pokazatelj angiogenetskih procesa, koji se odvijaju u CAM. Takođe, nakon završetka rasta CAM što se u literaturi podudara sa E10, vaskularno korito nastavlja da raste i da se razvija. Prvog dana uzorkovanja (E12) zabeležena je najmanja vrednost za ineks prokrvljenosti (0,196), dok je najveća vrednost (0,275) zabeležena poslednjeg dana uzorkovanja (E19). Ovakve vrednosti razvoja krvnih sudova CAM mogu biti od značaja istraživačima koji se bave angiogenetskim studijama, kao i dobar indikator procesa rasta i razvoja u postnatalnom periodu.

ZAHVALNOST

Rad je finansiran sredstvima projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

1. *Hulet R.M. Managing incubation: Where are we and why? Poultry Science 2007, 86(5),1017-1019.*
2. *Verhoelst E., Bameli, F., Ketelaere B.D., Trong N.N.D., Baerdemaeker J.D., Saeys W., Tsuta M., Decuypere E. The potential of spatially resolved spectroscopy for monitoring angiogenesis in the chorioallantoic membrane. Biotechnology progress 2011, 27(6), 1785–1792.*
3. *Kanački Z., Stojanović S., Uščebrka G., Žikić D. The effect of modification of incubation factors on the quality of broiler chickens meat. 3rd International Congress: "New perspectives and challenges of sustainable livestock production", October 5-7, Belgrade, Biotechnology in Animal Husbandry 2011, 27(4):1605-1611.*
4. *Verhoelst E., De Ketelaere B., Decuypere E., De Baerdemaeker J. The effect of early prenatal hypercapnia on the vascular network in the chorioallantoic membrane of the chicken embryo. Biotechnology progress 2011, 27(2):562–570.*
5. *De Smit L., Bruggeman V., Tona J.K., Debonne M., Onagbesan O., Arckens L., De Baerdemaeker J., Decuypere E. Embryonic developmental plasticity of the chick: increased CO2 during early stages of incubation changes the developmental trajectories during prenatal and postnatal growth. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 2006, 145(2):166–175.*
6. *Nowak-Sliwinska P., Segura T., Iruela-Arispe M.L. The chicken chorioallantoic membrane model in biology, medicine and bioengineering. Angiogenesis 2014, 17(4):779–804.*

7. *Koutsaviti A., Tzakou O., Galati E., Certo G., Germanò M. Chemical Composition of Juniperus phoenicea and J. drupacea Essential Oils and their Biological Effects in the Choriallantoic Membrane (CAM) Assay. Natural Product Communications 2017, 12(3):449-452.*
8. *Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. Mechanisms of Development 2016, 141:70–77.*
9. *Romanoff A.L. The avian embryo: structural and functional development. Mc Millan, New York, 1960.*
10. *Tuan R.S. Mechanism and regulation of calcium transport by the chick embryonic chorioallantoic membrane. The Journal of experimental zoology 1987, 1:1–13.*
11. *Smith A., Nitzsche B., Maibier M., Pries A., Secomb T. Microvascular Hemodynamics in the Chick Chorioallantoic Membrane. Microcirculation 2016, 23(7):512-522.*
12. *Mandic P., Filipovic T., Gasic M., Djukic-Macut N., Filipovic M., Bogosavljevic I. Quantitative morphometric analysis of the myenteric nervous plexus ganglion structures along the human digestive tract. Vojnosanitetski pregled 2016, 73(6):46-46.*
13. *De Fouw D.O., Rizzo V.J., Steinfeld R., Feinberg R.N. Mapping of the microcirculation in the chick chorioallantoic membrane during normal angiogenesis. Microvascular Research 1989, 38(2):136–147.*
14. *Makanya A.N., Hlushchuk R., Djonov V.G. Intussusceptive angiogenesis and its role in vascular morphogenesis, patterning, and remodeling. Angiogenesis 2009, 12(2):113-123.*
15. *Makanya A.N., Dimova I., Koller T., Styp-Rekowska B., Djonov V. Dynamics of the Developing Chick Chorioallantoic Membrane Assessed by Stereology, Allometry, Immunohistochemistry and Molecular Analysis. PLoSONE 2016, 11(4):e0152821.*
16. *Baum O., Suter F., Gerber B., Tschanz S.A., Buergy R., Blank F., Hlushchuk R., Djonov V. VEGF-A promote intussusceptive angiogenesis in the developing chicken chorioallantoic membrane. Microcirculation 2010, 17(6):447–457.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 612.591
Stanojević et al., pp 140-146

KONCENTRACIJA KALCIJUMA, NEORGANSKOG FOSFORA I MAGNEZIJUMA U KRVI KRAVA U TOPLOTNOM STRESU

CONCENTRATION OF BLOOD CALCIUM, INORGANIC PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN COWS DURING HEAT STRESS

Jovan Stanojević[1*], Miodrag Radinović[1]

[1]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicine*
[1]*Unievrsity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine*
**Autor za kontakt: jovan2912@email.com*

SAŽETAK

Povišena ambijentalna temperatura i vlažnost vazduha u toku leta predstavljaju glavne činioce koji nepovoljno utiču na zdravlje i proizvodno reproduktivne sposobnosti visokomlečnih krava.Toplotni stres dovodi do poremećaja opšteg stanja i metabolizma, pri čemu se aktiviraju adaptacioni mehanizmi i dolazi do promena metaboličkog profila. Cilj ovog istraživanja je da se ispitaju pokazatelji mineralnog statusa u krvi krava u periodu povišene ambijentalne temperature. U ogled je uključeno 45 krava holštajn-frizijske rase, u drugoj laktaciji, jednake telesne kondicije i dobrog zdravstvenog stanja. Krave su podeljene u tri ogledne grupe: 15 krava izloženih toplotnom stresu u sredini laktacije, 15 krava izloženih toplotnom stresu na početku laktacije i 15 krava u termoneutralnoj zoni. Određena je koncentracija: kalcijuma, neorganskog fosfora i magnezijuma. Na osnovu dobijenih rezultata primećuju se značajno niže koncentracije kalcijuma i fosfora kod krava izloženih toplotnom stresu u odnosu na termoneutralnu zonu, pri čemu je koncentracija kalcijuma značajno niža na početku laktacije. Koncentracija magnezijuma nije pokazala značajna odstupanja.

Ključne reči: toplotni stres, kalcijum, fosfor, magnezijum.

ABSTRACT

Elevated ambient temperature and humidity during the summer are the main factors that adversely affect the health and reproductive performance of dairy cows. The aim of this study is to investigate indicators of mineral status in the blood of cows during periods of elevated ambient temperature. The trial included 45 cows of the Holstein-Friesian breed, in the second lactation, of equal physical fitness and good health. Cows were divided into three experimental groups: 15 cows exposed to heat stress in the middle of lactation, 15 cows exposed to heat stress at the beginning of lactation, and 15 cows in the thermoneutral zone. The concentration of calcium, inorganic phosphorus and magnesium was determined. Based on the obtained results, significantly lower concentrations of calcium and phosphorus are observed in cows exposed to heat stress relative to the thermoneutral zone, with calcium concentrations significantly lower at the beginning of lactation. The magnesium concentration showed no significant deviation.

Keywords: heat stress, calcium, phosphorus, magnesium.

UVOD

Krave su svakodnevno izložene različitim stresnim faktorima. Stresni faktori su svi oni uticaji iz spoljašnje i unutrašnje sredine koji nanose ili mogu naneti štetu homeostazi organizma i na koje se životinja svakodnevno prilagođava. Najvažniji spoljašnji ambijentalni stresni faktor kod krava je toplotni stres, dok su pojava metaboličkog stresa, povećana ketogeneza i opterećenje hepatocita najčešći unutrašnji stresni faktori (28). U slučaju delovanja toplotnog stresa najvazniji poremećaj je smanjeno uzimanje hrane i povećano usmeravanje metabolita ka telesnim tkivima kako bi se nesmetano vršile funkcije hlađenja organizma. Toplotni i metabolički stres negativno utiču na zdravlje i produktivnost krava, redukcija pojave estrusa, koja je za 80% veća tokom letnjih meseci (18),a takođe dovode i do poremećaja parametara metaboličkog profila (4). Takođe je primećena veća prevalenca pojedinih intestinalnih oboljenja parazitarne i bakterijske etiologije, registrovan je i povećan broj uginuća tokom leta, a prisutan je i znatno veći broj mastitisa tokom letnje sezone (16). Promene u hormonalnom statusu preslikavaju se i na pokazatelje metabolič- kog statusa krava, a ovim istraživanjem je ispitan uticaj toplotnog stresa na održavanje kalcemije, fosfatemije i magnezijemije u krvnom serumu krava.

Postojanje toplotnog stresa se potvrđuje odredjivanjem THI indeksa (eng. Temperature-humidity index) koji predstavlja numeričku vrednost koja se izračunava na osnovu podataka o temperaturi i vlažnosti vazduha u periodu ispitivanja. Dosadašnje analize drugih autora su pokazale da je kritična vrednost THI indeksa iznad koje se javljaju fiziološke adaptacije, pad produktivnosti i patofiziološke promene na nivou 72 (2,3,27). Könyves i sar. (2017) su ustanovili da je čak 96% dana tokom letnjeg perioda imalo kritične vrednosti THI. Povećanje vrednosti THI indeksa dovodi do smanjenja u proizvodnji mleka, koje se kreće u intervalu 0,18 – 0,36 kg /po jedinici povećanja THI (24).

Makroelementi su supstance neorganskog porekla, neophodne za pravilno održavanje životnih funkcija domaćih životinja (11,21). Neophodni su za odvijanje fizioloških procesa povezanih sa zdravstvenim statusom, rastom i reprodukcijom, kao i regularnom funkcijom imunog sistema, proizvodnjom hormona, sintezom tkiva, aktivnošću enzima, proizvodnjom energije, sintezom vitamina, neuromuskularne transmisije, proizvodnje mleka i koagulacije krvi. Uloga kalcijuma u organizmu je višestruka. Prisutan je u svim ćelijama, tkivima i tkivnim tečnostima. Kalcijum učestvuje u stvaranju kostiju, neophodan je za lučenje mleka, za koagulaciju krvi, reguliše nervno mišićnu razdražljivost, rad srčanog mišića i bubrega i aktivator je enzima. Kalcijum se u hrani nalazi u obliku nerastvorljivih soli i resorpcija iz digestivnog trakta zavisi od mnogih faktora: kisela sredina želudca, žučne kiseline, aminokiseline, laktoza i D – vitamin olakšavaju resorpciju kalcijuma, dok višak masti i hitinske kiseline otežavaju resorpciju. Odnos kalcijuma i fosfora bitno utiče na njihovu resorpciju iz digestivnog trakta (10). Koncentracija kalcijuma u krvi krava iznosi 2,1 – 2,5 mmol/L, a u peripartalnom periodu dolazi do opadanja koncentracije kalcijuma. Da bi se održala kalcemija i homeostaza organizma vrši se mobilizacija kalcijuma iz kostiju, što je regulisano delovanjem paratireoidnog hormona. Takodje delovanjem vitamina D pojačava se resorpcija kalcijuma iz digestivnog trakta i smanjuje njegov gubitak kroz bubrege (1).

Rasooli i sar. (2004) su ustanovili značajno smanjenje koncentracije kalcijuma u krvi krava izloženih ekstremno visokim temperaturama tokom leta (2.37±0.03 mmol/L) nego u zimskom periodu pri optimalnim ambijentalnim uslovima (2.56±0.02 mmol/L), pri čemu je nivo kalcijuma u krvi bio najniži kada je temperature spoljašnje sredine bila najviša.

Smatra se da je to posledica uticaja povišene spoljašnje temperature na smanjenje apetita i smanjenog unosa suve materije zbog toplog vremena. Nikitović i sar. (2016) su ustanovili značajno višu koncentraciju Ca, P i Mg u krvi (serumu) u proleće u odnosu na zimski periodu, pri čemu vrednosti nisu prelazile fiziološke vrednosti.

Fosfor se u organizmu nalazi u obliku fosfata (soli fosforne kiseline) i razmatra se zajedno sa kalcijumom zbog njihove značajne interakcije i sličnih regulatornih mehanizama kojima podležu. Slobodni fosfat se apsorbuje iz digestivnog trakta putem aktivnog transporta. U organizmu fosfat može da se veže za organske molekule (organski fosfat) ili reaguje sa mineralnim anjonima kada ga nazivamo neorganski fosfat. Fosfor se izlučuje iz organizma putem bubrega. Fosfati su intracelularni katjoni. Uloga fosfata je u izgradnji šećerne (fosfatne) komponente lanca DNK i RNK, neophodan je za sintezu fosfolipida bioloških membrana, a nukleozid trifosfati (ATP) su glavni izvor metaboličke energije za većinu životnih procesa. Manjak fosfata je u vezi sa smanjenim stvaranjem ATP-a, što je veoma značajno za peripartalni period kada krave imaju problem zbog deficita energije. Takodje ukoliko koncentracija fosfora opada tokom aplikacije glukoze, znači da se glukoza dobro koristi za energetske potrebe perifeenog tkiva. Višak fosfata dovodi do demineralizacije kostiju zbog uticaja na paratireoidnu žlezdu (5).

Simeonov i sar. (1971) su proučavali koncentracije Ca, nP i Mg u krvnom serumu 620 visokoproduktivnih krava, koje su pokazivale znake osteomalacije. Ustanovili su da je najniža koncentracija nP tokom leta kada su zapaženi i znaci osteomalacije. Ovo su objasnili tako što su krave u letnjem periodu hranjene velikim količinama zelene deteline, koja je sadržavala velike količine Ca a bila je siromašna u nP.

Magnezijum je intracelularni katjon. Apsorbuje se najpre u buragu preko sistema aktivnog transporta. Dalja apsorpcija se vrši u crevima, pomoću pasivnog procesa. Gotovo 60% magnezijuma se nalazi u kostima. U krvotoku se magnezijum nalazi vezan za albumin (trećina), dok je ostatak jonizovan. Koncentracija magnezijuma ne zavisi od delovanja hormona niti acido-baznog statusa. Međutim, višak kalijuma u hrani smanjuje koncentraciju apsorbovanog magnezijuma. Višak magnezijuma se reguliše eliminacijom putem bubrega. Višak magnezijuma je u vezi sa smanjenom mišićnom razdražljivošću. Veoma je značajna uloga magnezijuma u funkcionisanju velikog broja enzima. Smatra se da je magnezijum kofaktor u procesu aktiviranja preko 300 enzima koji regulišu reakcije energetskog metabolizma, metabolizam proteina i nukleinskih kisleina (Popović, 2008). Smanjene koncentracije magnezijuma tokom stresnih reakcija povećava reakciju kateholamina i kortizola na stresne stimuluse.

Forenbacher (1979) ističe da pri acidotičnoj indigestiji, usled smanjenja pH vrednosti sadržaja buraga, dolazi do poremećaja jonizacije Ca i Mg i do poremećaja
njihove resorpcije. Kao rezultat toga javlja se pad koncentracije Ca u krvnom serumu ispod 1,75 mmol/L, a koncentracije Mg ispod 0,32 mmol/L i nastaje sklonost ka tetaniji.

MATERIJAL I METODE

Ogled je izveden na farmi visokomlečnih krava u Vojvodini, tokom proleća i leta u periodu od 1. do 30. aprila za krave u termoneutralnoj zoni, odnosno od 30. juna do 5. avgusta 2018. godine za krave izložene toplotnom stresu. Za sprovođenje ogleda odabrano je 45 krava holštajn-frizijske rase, koje su podeljene u tri grupe: 15 krava koje su bile izložene toplotnom stresu u sredini laktacije, 15 krava koje su bile izložene toplotnom stresu u prvoj fazi laktacije i 15 krava u sredini lakatacije u termoneutralnoj zoni koje nisu bile izložene toplotnom stresu. Sve životinje uključene u ogled bile su klinički zdrave što je utvrđeno kliničkim pregledom i uvidom u evidenciju

podataka o zdravstvenom stanju životinja u predhodnim laktacijama. Prosečna telesna masa krava iznosila je 600 +/- 50kg. U periodu ispitivanja krave su hranjene standardnim miksiranim obrocima dva puta dnevno. Optimizacija obroka izvršena je na osnovu telesne mase i dnevne količine proizvedenog mleka. U toku ogleda prećena je i konzumacija obroka odnosno unos suve materije u odnosu na optimalne potrebe za tu kategoriju krava.

Krv je uzimana venepunkcijom *v. jugularis*. Krave su fiksirane na hranidbenom stolu, nakon čega je izvršeno šišanje dlake i dezinfekcija kože na mestu plasiranja igle u venu. Za uzorkovanje krvi korištene su vakutajner epruvete sa separacionim gelom. Epruvete su obeležene brojem ušne markice svake krave i stavljene u prenosni frižider u kom su transportovane u laboratoriju. U laboratoriji je odredjena koncentracija: kalcijuma, neorganskog fosfora i magnezijuma. Koncentracija pomenutih parametara odredjivana je pomoću standardnih, komercijalnih kitova (Randox, UK) na aparatu marke Rayto.

Postojanje toplotnog stresa potvrdjeno je određivanjem THI indeksa. THI se računa pomoću formule: (Mohamed Ahmed et al.,2010): mTHI = 0.8 x mAT + (mRH x (mAT – 14.4)) + 46.4 ; mTHI- srednja vrednost THI , mAT- srednja vrednost atmosferskog pritiska,mRH – srednja relativna vlažnost data u decimalnim vrednostima (ne u procentima), a originalni podaci su dobijeni iz meteoroloških izveštaja.

Statistički podaci tokom ispitivanja obradjeni su deskriptivnim statističkim parametrima: aritmetičkom sredinom, standardnom devijacijom, standardnom greškom aritmetičke sredine, koeficijentom varijacije i prikazani su tabelarno i grafički. Za analizu stepena značajnosti razlika ispitivanih parametara između dve aritmetičke sredine korišćen je studentov T-test.

REZULTATI

Rezultati istraživanja prikazani u tabeli 1. pokazuju koncentraciju: kalcijuma, neorganskog fosfora i magnezijuma kod krava izloženih toplotnom stresu i krava u termoneutralnoj zoni, pri čemu su obe grupe krava u sredini laktacije. THI kod krava u toplotnom stresu je iznosio 81, dok je kod krava u termoneutralnoj zoni THI iznosio 69. Rezultati istraživanja prikazani u tabeli 2. pokazuju koncentraciju: kalcijuma, neorganskog fosfora i magnezijuma kod krava izloženih toplotnom stresu u sredini laktacije i krava u ranoj laktaciji (metaboličkom stresu) koje su takođe bile izložene toplotnom stresu, kao i statistički značajnu razliku ovih parametara kod ove dve grupe krava.

Tabela 1. Koncentracija Ca, P i Mg u krvi krava u toplotnom stresu i u termoneutralnoj zoni

grupa	Toplotni stres (N=15)	Termoneutralni p.(N=15)	p
Kalcijum (mmol/L)	2.19 ±0.291	2.5 ±0.452	P<0.01
Fosfor (mmol/L)	1.473 ±0.201	2.16 ± 0.356	P<0.01
Magnezijum (mmol/L)	0.882 ± 0.143	0.95 ± 0.095	NS

Tabela 2. Koncentracija Ca, P i Mg u krvi krava u toplotnom stresu u sredini laktacije i na početku laktacije

grupa	Toplotni stres (N=15)	Termoneutralni p.(N=15)	p
Kalcijum (mmol/L)	2.35 ± 0.291	2.03 ±0,16	P<0.01
Fosfor (mmol/L)	1.473 ± 0.201	1.55 ± 0,23	NS
Magnezijum (mmol/L)	0.882 ± 0.143	0.95 ±0.25	NS

DISKUSIJA

Makroelementi su neophodni za funkcionisanje esencijalnih biohemijskih procesa u organizmu mlečnih krava, a deficiti ovih neorganskih materija u zavisnosti od stepena mogu dovesti do kliničkih i subkliničnih obolenja. Na početku laktacije kod krava, homeostatski mehanizmi regulacije Ca i neorganskog P prilagođavaju se značajno povećanim zahtevima za Ca i P od strane mlečne žlezde. Mobilizacija Ca iz kostiju se povećava kao i pojačana resorpcija iz
gastro intestinalnog trakta kako bi se uspostavila homeostaza. Utvrđeno je da krave sa visokom proizvodnjom mleka znatno više mobilišu Ca i P iz kostiju u odnosu na krave
sa niskom proizvodnjom mleka (13). Početak laktacije uslovljava nagle i visoke zahteve za Ca i P iz organizma krava neophodnih za sintezu sastojaka mleka. Kod pojedinih krava, smanjivanje koncentracija Ca i P u krvi na početku laktacije je izraženo, pa nastaje drastičan pad koncentracija Ca i P u krvi (od
uobičajenih 2-3 mmol/l na <1.5 mmol/l), što dovodi do hipokalcemije, smanjuje neuromišićnu nadražljivost i dovodi do pojave mlečne groznice (puerperalna pareza) (21). U ovom radu utvrđeno je statistički značajno smanjenje ($P<0.01$) kalcijuma u periodu povišene ambijentalne temperature (Toplotni stres) u odnosu na termoneutralnu zonu (tabela 1), kao i statistički značajno niža koncentracija kalcijuma na početku laktacije u odnosu na sredinu laktacije (tabela 2), što se slaže sa rezultatima koje su dobili Đoković i sar. (2019) (6). Neorganski fosfor ima važnu ulogu u anaboličkim procesima, učestvuje u procesima fosforilacije, utiče na acidobaznu ravnotežu i svaka promena u ovim procesima ima uticaja na koncentraciju neorganskog fosfora u krvi krava. Intenzitet oksidativne fosforilacije stoji pod uticajem tireoidnih hormona (25). Seifi (1997) (20) izveštava da je koncentracija nP najveća zimi a najniža u proleće i jesen. Ovakve rezultate su potvrdili Simeonov i sar., 1971 i Ivanov i sar., 1988. Peterson i Waldern (1981) (15) smatraju da visoke koncentracije nP zimi su rezultat korišćenja hrane bogatom u fosforu. Rasooli i sar. (2004) (19) nisu ustanovili uticaj sezone i povišene ambijentalne temperature na koncentraciju nP u krvi krava. U ovom istraživanju koncentracija fosfora se nalazila ispod donje fiziološke granice i bila je statistički značajno niža ($P<0.05$) u periodu toplotnog stresa u odnosu na period bez povišene ambijentalne temperature (tabela 1), dok kod krava u istim uslovima toplotnog stresa na početku laktacije i u sredini laktacije nije pronađena statistički značajna razlika (tabela 2).

Magnezijum je esencijalan kao kompleks MgATP, za sve biosintetičke procese (glukoliza, membranski transport zavisan od energije, formiranje cikličnog AMP-a i transmisiju genetskog koda). Više od 300 enzima se aktivira uz pomoć Mg. Magnezijum je odgovoran za održavanje električnog potencijala (preko membrana nerava i mišića) i za prenos nervnog impulse. U ovom radu koncentracija magnezijuma u krvi je bila u granicama optimalnih vrednosti u svim periodima ispitivanja i u obe faze laktacije bez statistički značajnih razlika, što se može videti u tabelama 1 i 2. . Homeostaza Mg zavisi od optimalnog snabdevanja iz alimentarnih izvora, pa stoga koncentracija Mg zavisi od resorpcije u buragu (11).

ZAKLJUČAK

U uslovima toplotnog stresa parametri mineralnog statusa krava pokazuju određena odstupanja od fizioloških granica. Na osnovu dobijenih analiza utvrđeno je da toplotni stres utiče na koncentraciju kalcijuma i neorganskog fosfora, dok na koncentraciju magnezijuma nema uticaja. Pored toplotnog stresa na koncentraciju kalcijuma dodatno utiče i faza laktacije, pa je kalcemija značajno niža na početku laktacije u odnosu na sredinu laktacije. Na koncentraciju magnezijuma toplotni stres nema uticaja, kao ni faza laktacije.

ZAHVALNICA

Ovo istraživanje je finansirano od strane Ministarstva prosvete nauke i tehnološko razvoja R.Srbije

LITERATURA

1. *Belić B., Cincović M. Patološka fiziologija. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, 2015.*
2. *Cincović M.R. Metabolički stres krava. Poljoprivredni fakultet Novi Sad-Departman za veterinarsku medicinu, 2016.*
3. *Cincović M.R., Belić B., Stevančević M., Lako B., Toholj B., Potkonjak A. Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress, Contemporary agriculture 2010, 59 (3-4):300-305.*
4. *Cincović M.R. Toplotni stres krava – fiziologija i patofiziologija, Monografija, Zadužbina Andrejević, Beograd, 2010.*
5. *Đoković R, Cincović M, Belić B. Fiziologija i patofiziologija metabolizma krava u peripartalnom periodu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, 2014.*
6. *Đoković R., Cincović M., Kurćubić V., Ilić Z., Petrović M.D., Petrović M., Anđelić B. Determination of blood serum calcium, inorganic phoshorus and magnesium in different productive stages of holstein dairy cows. Veterinarski glasnik 2019, 73(1):10-16.*
7. *Forenbacher S. O nekim alimentarno uvjetovanim poremetnjama mijene tvari kod junadi u tovu, Vet glasnik 1979, 1:27-31.*
8. *Horvat J., Šamanc H., Kirovski D., Vujanac I. Uticaj toplotnog stresa na metabolički status krava. Vet glasnik 2014, 68:3-4.*
9. *Ivanov V.I. Uticaj sezonskih varijacija ishrane na koncentracije makroelemenata (Ca, Mg, Na, K, P) u krvnom serumu i mokraći krava u visokoj bremenitosti i laktaciji u intenzivnom načinu držanja, Doktorska disertacija, Beograd, 1988.*
10. *Jovanović J.M., Stamatović S.M., Šamanc H., Radojčić B., Ivanov I., Damnjanović Z., Jonić B., Arsić B., Arandjelović J., Stefanović M., Petković B., Prilog izučavanju Metaboličkog profila krava u visokom graviditetu i puerperijumu, Vet Glasnik 1987, 41 (5) :297-400.*
11. *Kurćubić V., Ilić Z., Vukašinović M., Đoković R. Effect of Dietary Supplements of Sodium Bicarbonate on Tissue Calcium (Ca) and Magnesium (Mg) Levels in Beef Cattle. Acta Agriculturae Serbica 2010, 29 (15):55-76.*
12. *Könyves T., Zlatkovic N., Memisi N., Lukac D., Puvaca N., Stojsin M., Miscevic B. Relationship of temperature-humidity index with milk production and feed intake of holstein-frisian cows in different year seasons. The Thai Journal of Veterinary Medicine 2017, 47(1):15.*
13. *Liesegang A., Chiappi C., Risteli J., Kessler J., Hess H.D. Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2007, 91(3-4):120-119.*
14. *Nikitovic J., Pracic N., Bosancic B. Concentration of Ca, P and Mg in Serum of Simmental Cows From Different Geographic Areas, 2016.*
15. *Peterson R.G., DE Waldern. Repeatabilites of serum Contituens in Holstein-Frisians Affected by Feeding, Age, Lactation, and Pregnancy, J dairy Sci 1981, 64(5):822-831.*
16. *Polsky L., von Keyserlingk M.A. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. Journal of dairy science 2017, 100(11):8645-8657.*
17. *Popović M. Biohemija životinja. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, 2008.*
18. *Ramendra D., Lalrengpuii S., Nishant V., Pranay B., Jnyanashree S., Rakesh K. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. Vet world 2016, 9(3):260–268.*

19. *Rasooli A., Nouri M., Khadjeh G.H., Rasekh A. The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle, Iranian Journal of Veterinary Research 2004, 5(2):1Q 1383.*
20. *Seifi H. Evaluation of metabolic profile condition in some dairy farms in Tehran province. For the degree of PhD in large animal internal medicine. Fac. Of Vet. Med., Tehran University, Thesis 47 206-241, 1997.*
21. *Sharma M.C., Kumar P., Joshi C., Kaur H. Status of serum minerals and biochemical parameters in cattle of organized farms and unorganized farms of Western Uttar Pradesh. Journal of Animal and Veterinary Advances 2006, 1(1):33-41.*
22. *Soetan K.O., Olaiya C.O., Oyewole O.E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. African journal of food science 2010, 4(5):200-22.*
23. *Stamatović M.J., Jovanović M.J. Bolesti papkara.Veterinarski fakultet Beograd, 1994.*
24. *Toušová R., Ducháček J., Stádník L., Ptáček M., Pokorná S. Influence of Temperature-Humidity Relations During Years on Milk Production and Quality. Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis 2017, 65(1):211-218.*
25. *Šamanc H., Stojić V., Kovačević B., Vujanac I. Hormonalni status visoko-mlečnih krava, Zbornik referata 4. simpozijuma „Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda“ Subotica, 2005, 277-283.*
26. *Wacker W.E.C. Magnesium and Mangan. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1980.*
27. *West J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle, J Dairy Sci 2003, 86 :2131- 2144.*
28. *Wheelock J.B., Rhoads R.P., VanBaale M.J., Sanders S.R., Baumgard L.H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. Journal of dairy science 2010, 93(2) :644-655.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 599.731.1
Stevančević et al., pp 147-151

UTVRĐIVANJE PRISUSTVA I RAŠIRENOSTI PCV-2 INFEKCIJE KOD DIVLJIH SVINJA U SRBIJI

DETERMINING THE PRESENCE AND SPREAD OF PCV2 INFECTION IN WILD SWINE IN SERBIA

Ognjen Stevančević [a]*, Nenad Stojanac[a], Božidar Savić[a], Aleksandar Potkonjak[a], Ivan Stančić[a], Ivana Davidov[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu – Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of Veterinary medicine – Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
**autor za kontakt: ognjen.stevancevic@gmail.com*

SAŽETAK

Porcine circovirus type 2 (PCV2) je široko rasprostranjen virus domaćih i divljih svinja i primarni je uzročnik ove bolesti svinja. Divlje svinje su domaćin za PCV2 i infekcije kod ove vrste životinja su utvrđene u mnogim zemljama širom sveta. Cilj ovog rada je bio da se izvrši serološko ispitivanje na prisustvo antitela specifičnih za PCV2 kod divljih svinja. Serumi od 50 divljih svinja iz 5 različitih lokacija su ispitani indirektnom ELISA metodom. Sa svake lokacije je ispitano po 10 seruma od divljih svinja starijih od 6 meseci. Seroprevalenca se kretala od 20 do 80%. Ukupno je bilo 28 (56,0%) seropozitivnih divljih svinja. Samo na jednoj lokaciji seroprevalenca je bila manja od 50% i iznosila je 20%. Ovo ispitivanje je potvrdilo da divlje svinje mogu biti domaćini PCV2 i pokazalo da je virus široko rasprostranjen u Srbiji, kao i drugim delovima sveta. Ovo istraživanje upućuje da je neophodno dublje i opsežnije ispitati serološki status divljih svinja, kako po pitanju PCV2, tako i drugih virusni bolesti, jer upravo divlje svinje imaju značajnu ulogu u prenošenju i širenju bolesti svinja.

Ključne reči: divlja svinja, PCV2, seroprevalenca, epidemiologija.

ABSTRACT

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is a widespread virus in domestic and wild pigs and is the primary cause of this disease in pigs. Wild boars are hosts for PCV2 and infections in these species have been identified in many countries around the world. The aim of this study was to perform a serological testing for the presence of antibodies specific for PCV2 in wild boars. Serum samples from 50 wild boars from 5 different locations were tested by indirect ELISA method. From each location 10 sera were examined from wild boars older than 6 months. Seroprevalence ranged from 20 to 80%. Overall there were 28 (56.0%) seropositive wild boars. Only one location seroprevalence was less than 50% and was 20%. This test confirmed that wild pigs can be hosts for PCV2 and showed that the virus is widespread in Serbia, as well as the other parts of the world. This study suggests that it is necessary to examine more deeply and extensively the serological status of feral pigs, both in terms of PCV2 and other viral diseases, since it is feral pigs that play a significant role in the transmission and spread of pig disease.

Key words: wild swine, PCV2, seroprevalence, epidemiology.

UVOD

Porcine circovirusi (PCVs) su ubikvitarni ssDNK virusi, prisutni u populaciji domaćih (i divljih) svinja u celom svetu. Za dve vrste PCVs je poznato da mogu uzrokovati infekcije svinja to su: PCV-1 koji se smatra apatogenim i PCV-2 koji je uzročnik jednog od najznačajnijh infektivnih oboljenja svinja - PCV-SD. PCV-3 predstavlja proširenje virosfere unutar familije *circoviridae* ali su dosadašnja saznanja o ovom virusu i infekciji uzrokovanoj ovim virusom uključujući njegov pun patogeni potencijal i patogenezu infekcije još uvek nedovoljna. U grupu cirkovirusnih bolesti pored PCV-SD a nalaze se i poremećaji u reprodukciji, dermatitis nefropatski sindrom (*Porcine dermatitis nephropathy syndrome*- PDNS), kao i respiratorni i enterični oblik ove bolesti. Danas se ovi patološki entiteti jednim imenom nazivaju cirkovirusna oboljenja svinja (*Porcine circovirus associated diseases*-PCVAD) (1). Izvor zaraze su uglavnom bolesne životinje, a kliničke manifestacije zavise od organskog sistema koji je zahvaćen.

Mnogi patogeni se šire među divljim i domaćim svinjama, uključujući klasičnu kugu svinja (2), Afričku kugu svinja (3), bolest Aujeckog (4), reproduktivno-respiratorni sindrom svinja (PRRS) (5) i svinjski cirkovirus tipa 2 (PCV2) (6).

Na osnovu seroloških ispitivanja poznato je da je PCV2 ubikvitaran i prisutan na farmama sa i bez kliničkih znakova bolesti (7), sa seroprevalencom blizu 100% kod tovljenika širom sveta (1, 8, 9). Takođe je poznato da su divlje svinje prijemčive za PCV2. PCV2 se uglavnom širi horizontalnim prenošenjem (direktno i indirektno), oronazalnum putem sekreta, fecesa i urina (10), ali potvrđeno je i vertikalno prenošenje (11). Pojava PCV2 je ustanovljena samo kod roda Sus, koji čine domaća i divlja svinja. Klinički znaci PCV2, makroskopske i mikroskopske lezije su iste kod divljih, kao i domaćih svinja. U populacji divljih svinja prevalenca specifičnih antitela za PCV2 u Španiji je 50% (4,6), u Republici Češkoj 43% (12). PCV2 kod divljih svinja je utvrđen u mnogim zemljama uključujući SAD (13), Brazil (14), Nemačku (15), Hrvatsku (16), Grčku (17), i Italiju (18). Cilj ovog rada je bio da se ispita seroprevalenca PCV2 kod divljih svinja sa pet različitih lokacija i na osnovu dobijenih rezultata analizira rizik eventualnih novih infekcija sa PCV2 u populaciji divljih svinja.

MATERIJAL I METODE

U toku 2012. godine skupljani su uzorci krvnih seruma od divljih svinja odstreljenih na 5 različitih lokacija (lovišta) u Srbiji. Sa svake lokacije je ispitano po 10 uzoraka krvih seruma divljih svinja. Uzorci krvi sakupljani su u količini oko 5 ml u vakutajnere sa aktivatorom koagulacije i u ručnom frižideru dopremani do laboratorije. Krvni serum je izdvajan nakon koagulacije i centrifugiranja. Uzorci seruma čuvani su na -20º do ispitivanja. Detekcija specifičnih antitela za PCV2 urađena je indirektnom ELISA metodom - INGEZIM CIRCO IgG (Ingenasa, Španija) po uputstvu proizvođača.

REZULTATI

Prisustvo spefičnih antitela za PCV2 utvrđeno je u 28 krvnih seruma divljih svinja od ukupno 50 analiziranih (56%). Seroprevalenca je bila različita među divljim svinjama poreklom sa različitih lokacija (Tabela 1). Najviša prevalenca je ustanovljena kod divljih svinja sa lokacije II (80%), dok je samo na jednoj lokaciji bila manja od 50%, samo dve jedinke od 10 ispitanih su bile seropozitivne. Na lokaciji III procenat seropozitivnih svinja bio je 60%, na lokaciji IV 50%, dok je na lokaciji V iznosila 70%.

Tabela 1. Distribucija i prisustvo specifičnih antitela za PCV2 u krvnom serumu divljih svinja sa 5 različitih lokacija

Lokacija	Broj ispitanih uzoraka krvnog seruma	Broj pozitivnih uzoraka	Seroprevalence PCV2 (%)
I	10	2	20
II	10	8	80
III	10	6	60
IV	10	5	50
V	10	7	70
TOTAL	50	28	56

DISKUSIJA

Visoka seroprevalenca PCV2, pravilno rasprostranjena ukazuje na endemski status PCV2 kod divljih svinja u Srbiji. U prilog ovome govore nalazi i drugih autora, koji su u svojim istraživanjima došli do sličnih rezultata širom sveta. Reiner et al. (19) su u Nemačkoj utvrdili seroprevalencu PCV2 koja se kretala od 12,5% do 100% u zavisnosti od regije u kojoj su vršili ispitivanje. U Rumuniji je utrvđena nešto niža seroprevalenca, od 7% do 30% (20), dok je u Poljskoj (21), slična kao i u našem istaživanju, seroprevalenca iznosila od 52,4% do 95%. Divlje svinje su potencijalni rezervoar nekoliko virusnih bolesti domaćih svinja, kao što su klasična kuga svinja, bolest Aujeckog i bovine viral diarrhoea virus, ali kod PCV2 je izgleda suprotan slučaj (22). Zapravo, serološko ispitivanje je pokazalo visok pritisak PCV2 infekcija kod domaćih svinja sa prevalencom skoro 100% širom sveta (1) i ovo prevalenca je viša nego kod divljih svinja. Ovo je potrvđeno i u istraživanjima u SAD (23), gde je ustanovljena viša prevalenca PCV2 kod divljih svinja u regijama gde se nalaze velike farme sa intezivnom proizvodnjom domaćih svinja. Dok u regijama sa slabijom razrđenom proizvodnjom domaćih svinja ustanovljene dosta niže seroprevalence PCV2 kod divljih svinja.

ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje upućuje da je neophodno dublje i opsežnije ispitati serološki status divljih svinja, kako po pitanju PCV2, tako i drugih virusni bolesti, jer upravo divlje svinje imaju značajnu ulogu u prenošenju i širenju bolesti svinja. Da bi unapredili znanje o epidemiologiji PCV2 kod divljih svinja, potrebno je da buduća ispitivanja uključe i prasad, kako bi se utvrdilo štetno dejstvo PCV2 na zdravstveni status, a samim tim i uticaj na mortalitet divljih svinja.

ZAHVALNOST

Rezultat je deo projekta finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnloškog razvoja R.Srbije.

LITERATURA

1. *Segalés J., Allan G.M., Domingo M. Porcine circovirus diseases. Animal Health Research Review 2005, 6:119–142.*
2. *Paton D.J., Greiser-Wilke I. Classical swine fever—An update. Research in Veterinary Science 2003, 75:169–178.*

3. *Jori F., Bastos A.D.S. Role of wild suids in the epidemiology of African swine fever. EcoHealth 2009, 6:296–310.*
4. *Vicente J., Segalés J., Hofle U., Balasch M., Plana-Duran J., Doming, M., Gortazar C. Epidemiological study on porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in the European wild boar (Sus scrofa). Veterinary Research 2004, 35:243–253.*
5. *Reiner G., Fresen C., Bronnert B., Willems H. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in wild boars. Veterinary Microbiology 2009, 136: 250–258.*
6. *Ruiz-Fons F., Vicente J., Vidal D., Hofle U., Villanua D., Gauss C., Segalés J., Almeria S., Montoro V., Gortazar C. Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (Sus scrofa) from Spain: The effect on wild boar female reproductive performance. Theriogenology 2006, 65:731–743.*
7. *Rose N., Blanchard P., Larour G., Le Diguerher G., Eveno E., Jolly J.P., Oger A., Le Dimma M., Jestin A., Madec F. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in France: serological profiles of affected versus non-affected herds and preliminary analytical epidemiology. Pig Journal 2002, 50:124–134.*
8. *Stevančević O., Stojanac N., Potkonjak A., Toholj B., Stančić I., Vračar V. Serološki odgovor prasadi vakcinisane protiv cirkovirusnih infekcija. Veterinarski glasnik 2014, 68(3-4):189-195.*
9. *Stevančević O., Potkonjak A., Vujić B., Savić B., Stojanac N., Tomić Z., Davidov I., Cincović M. Seroprevalence of porcine circovirus type 2 infection in the area of Vojvodina. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke 2019, 136:167—174.*
10. *Ghebremariam M.K., Gruys E. PMWS in pigs with particular emphasis on the causative agent, the mode of the transmission, the diagnostic tools and the control measures. A review. Veterinary Quarterly 2005, 27:105–116.*
11. *Park J.S., Kim J., Ha Y., Jung K., Choi C., Lim J.K., Kim H., Chae C. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. The Journal of Comparative Pathology 2005, 132:139–144.*
12. *Sedlak K., Bartova E., Machova J. Antibodies to selected viral disease agents in wild boars from the Czech Republic. Journal of Wildlife Diseases 2008, 44:777–780.*
13. *Ellis J., Spinato M., Yong-Ong C., West K., McNeilly F., Meehan B., Kennedy S., Clark, E., Krakowka S., Allan G. Porcine circovirus 2–associated diseases in Eurasian wild boar. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2003, 15:364–368.*
14. *Correa A.M.R., Zlotowski P., Roza D.B., Borba M.R., De Souza Leal J., Da Croz C.E.F., Driemeier D. Postweaning multisystemic wasting syndrome in farmed wild boars (Sus scrofa) in Rio Grande do Sul. Pesquisa Veterinaria Brasileira 2006, 26:154–156*
15. *Schulze C., Segalés J., Neumann G., Hlinak, A., Calsamiglia M., Domingo M. Identification of postweaning multisystemic wasting syndrome in European wild boar (Sus scrofa). Veterinary Record 2004, 154:694–696.*
16. *Lipej Z., Segalés J., Jemersic L., Olvera A., Roic B., Novosel D., Mihajlevic Z., Manojlovic, V. First description of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in wild boar (Sus scrofa) in Croatia and phylogenetic analysis of partial PCV2 sequences. Acta Veterinaria Hungarica 2007, 55:389–404.*
17. *Sofia M., Billinis C., Psychas V., Birtsas P., Sofianidis G., Leontides L., Knowles N., Spyrou V. Detection and genetic characterization of porcine circovirus 2 isolates from the first cases of postweaning multisystemic wasting syndrome in wild boars in Greece. Journal of Wildlife Diseases 2008, 44:864–870.*
18. *Petrini S., Barocci, S., Garaudan S., Villa R., Briscolini S., Sabbatin, M., Mattozzi C., Barchiesi F., Salamida S., Ferrari M., Paniccia M., Pezzotti G. Detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) from wild boars in central Italy. European Journal of Wildlife Research 2009, 55:465–469.*
19. *Reiner G., Bronnert B., Hohloch C., Fresen C., Haack I., Willems H., Reinacher M. Qualitative and quantitative distribution of PCV2 in wild boars and domestic pigs in Germany. Veterinary Microbiology 2010, 145:1–8.*

20. *Cadar D., Csagola A., Spinu M., Dan A., Ursu K., Lorincz M., Tubol T. Prevalence of porcine circoviruses in Transylvanian wild boars, detected by real-time PCR—Short communication. Acta Veterinaria Hungarica 2010, 58:475–481.*
21. *Fabisiak M., Szczotka A., Podgorska K., Stadejek T. Prevalence of infection and genetic diversity of porcine circovirus type 2 (PCV2) in wild boar (Sus scrofa) in Poland. Journal of Wildlife Diseases 2012, 48(3):612–618.*
22. *Ruiz-Fons F., Segalés J., Gortazar C. A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoir role. Veterinary Journal 2008, 176:158–169.*
23. *Corn J.L., Cumbee J.C., Barfoot R., Erickson G.A. Pathogen exposure in feral swine populations geographically associated with high densities of transitional swine premises and commercial swine production. Journal of Wildlife Diseases 2009, 45:713–721.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 599.735.52
Štrbac et al., pp 152-159

IN VITRO OVICIDAL EFFECT OF COMMON JUNIPER (*JUNIPERUS COMMUNIS L.*) ESSENTIAL OIL ON SHEEP GASTROINTESTINAL NEMATODES

IN VITRO OVICIDAN EFEKAT ETARSKOG ULJA KLEKE (JUNIPERUS COMMUNIS L.) NA GASTROINTESTINALNE NEMATODE OVACA

Filip Štrbac[a*], Antonio Bosco[b], Alessandra Amadesi[b], Laura Rinaldi[c], Dragica Stojanović[a], Nataša Simin[d], Dejan Orčić[d], Ivan Pušić[e], Slobodan Krnjajić[f], Radomir Ratajac[e]

[a]*Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Serbia*
[b]*CREMOPAR Regional centre for parasitic monitoring, Eboli (SA), Italy*
[c]*Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, Italy*
[d]*Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental protection, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, Serbia*
[e]*Scientific Veterinary Institute Novi Sad, Serbia*
[f]*Institute for Multidisciplinary Research, University of Belgrade, Serbia*
**corresponding author: strbac.filip@gmail.com*

ABSTRACT

The negative influence of gastrointestinal parasitism in sheep is growing today due to the development of anthelmintic resistance to commercial drugs. For this reason, researchers around the world are looking for new, alternative strategies for controlling these parasites. In this context, medicinal plants and their products are increasingly mentioned. The aim of this study was to evaluate *in vitro* ovicidal activity of common juniper (*Juniperus communis* L.) essential oil against sheep gastrointestinal nematodes. For that purpose, the egg hatch test was used, and the obtained results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by comparison with Tukey's test ($p<0.05$). Faecal samples were collected from two independent, natural-infected farms located in Eboli (SA), Italy, whereby the coproculture examination identified the presence of four genera of sheep gastrointestinal nematodes: *Haemonchus* (53%), *Trichostrngylus* (29.5%), *Teladorsagia* (14.5%) and *Chabertia* (3%). Main components of common juniper essential oil identified by GC-MS analysis were α-pinene (40.46%), sabinene (14.04%), myrcene (8.87%) and limonene (4.95%). *In vitro* ovicidal activity was evaluated at six different concentrations (50, 12.5, 3.125, 0.781, 0.195 and 0.049 mg/mL), whereby *J. communis* essential oil showed high activity with the inhibitory effect on hatchability of 81-96.75%, depending on the concentration. For all concentration tested, the effect was statistically significantly higher compared to the negative control, while for the three highest concentrations the effect was similar to the positive control. The obtained results suggested that *J. communis* essential oil have high anthelmintic potential. However, these results need confirmation in further field examination.

Keywords: essential oil, *Juniperus communis*, phytotherapy, nematodes, small ruminants.

SAŽETAK

Negativni uticaj gastrointestinalnih parazita kod ovaca u današnje vreme raste usled razvoja antihelmintičke rezistencije na komercijalne preparate. Iz tog razloga, istraživači širom sveta tragaju za novim, alternativnim strategijama u cilju kontrole ovih parazita. U tom kontekstu, lekovite biljke i njihovi proizvodi se sve češće spominju. Cilj ovog istraživanja je bio ispitati in vitro ovicidnu aktivnost esencijalnog ulja kleke (Juniperus communis L.) protiv gastrointestinalnih nematoda ovaca. Za ovu svrhu je upotrebljen egg hatch test, nakon čega su dobijeni rezultati obrađeni analizom varijanse i potom upoređeni Tukijevim testom ($p<0.05$). Uzorci fecesa su uzeti sa dve odvojene farme koje se nalaze u oblasti Eboli (SA), Italija, pri čemu je tokom ispitivanja koprokulture identifikovano prisustvo četiri roda gastrointestinalnih nematoda ovaca: Haemonchus (53%), Trichostrongylus (29.5%), Teladorsagia (14.5%) i Chaberita (3%). Najzastupljenije komponente etarskog ulja kleke identifikovane biohemijskim analizama su bile α-pinen (40.46%), sabinen (14.04%), mircen (8.87%) i limonen (4.95%). In vitro ovicidna aktivnost je testirana za šest različitih koncentracija (50, 12.5, 3.125, 0.781, 0.195 i 0.049 mg/mL), pri čemu je etarsko ulje kleke pokazalo visoku aktivnost sa inhibitornim efektom na izleganje larvi od 81-96.75%, u zavisnosti od koncentracije. Kod svih ispitivanih koncentracija efekat je bio statistički značajno veći u poređenju sa negativnom kontrolom, dok je kod tri najveće koncentracije efekat bio sličan pozitivnoj kontroli. Dobijeni rezultati ukazuju na to da etarsko ulje kleke ima visok antihelmintički potencijal. Međutim, potrebno je ove rezultate potvrditi u budućim ispitivanjima u terenskim uslovima.*

Ključne reči: esencijalno ulje, Juniperus communis, fitoterapija, nematode, mali preživari.

INTRODUCTION

Gastrointestinal nematodes (GINs) nowadays present a significant obstacle in the breeding of small ruminants (1). These parasites cause direct and indirect loses in different ways such as to impair of the health of the animals, reduction in food intake, low weight gain and milk production, lowered fertility and reduced work capacity (2). This is resulting in significant economic losses in meat, milk and wool production, as well as in sheep reproduction (3). Besides, anthelmintic resistance, which is spread worldwide, has developed as a consequence of frequent use, increased dosage and increased application rate of commercial anthelmintic drugs (1). These concerns have stimulated the search for alternative control methods such as a genetic selection of animals, pasture management, crop-livestock integration, nutrition adjustment, the use of fungi and bacteria in biological control, vaccine production and the use of herbal medicines (4)(5).

Essential oils (EOs) are natural, highly volatile metabolic secretions of plants whose role is still not fully understood by science (6). Actually, these plant products are a complex mixture of different compounds with great biotechnological and pharmaceutical potential (7). *Juniperus communis* L. (fam. *Cupressaceae*), also known as common juniper, is a very well known aromatic and medicinal herb with high therapeutic potential for the treatment of diseases in human and animals. It is a shrub or small evergreen tree with the largest natural range of any woody plant, mostly distributed throughout the cold and temperate regions of Northern Hemisphere (Europe, Asia and Northern America) (8)(9). This plant has a wide spectrum of pharmacological activity and is already widely used in folk medicine as antiseptic, diuretic, stomachic, cardiac and rheumatic drug (10). However, there are not too many data about using of *J. communis* in veterinary medicine.

The aim of this study was to evaluate the ovicidal activity of *Juniperus communis* essential oil against sheep gastrointestinal nematodes. These results can be significant for further in vivo research and for possible even wider therapeutical use in veterinary medicine.

MATERIAL AND METHODS

Essential oil and chemical analysis - Essential oil of *Juniperus communis* L. was purchased from producer BIOSS, Serbia in 2019. Qualitative and semi-quantitative chemical characterization of EO was performed by GC-MS, using Agilent Technologies 6890N gas chromatograph coupled with Agilent Technologies 5975B electron ionization mass-selective detector. The following technical conditions were used: injection volume of EO 1 µL; injector temperature 250 °C; split ratio 1:10; carrier gas helium; flow rate: 1 mL/min;; capillary column: HP-5 (30m×0.25mm, 0.25µm); temperature program 50-270 °C; ion source temperature 230 °C; electron energy 70 eV; quadrupole temperature 150 °C. The compounds were identified by comparison of mass spectra with data libraries (Wiley Registry of Mass Spectral Data, 7th ed. and NIST/EPA/NIH Mass SpectralLibrary 05) and confirmed by comparison of linear retention indices with literature data (11). Relative amounts of components, expressed in percentages, were calculated by normalization procedure according to peak area in total ion chromatogram.

Obtaining eggs and egg hatch test - The whole *in vitro* procedure was performed at the CREMOPAR research centre, Eboli (SA), Italy. Faecal samples were collected from two farms, Tobia Morena and Lullo Massimo, which are located at the same district. GIN eggs were recovered from faeces collected directly from the rectal ampulla of sheep with natural mixed infection. The faecal samples were processed within 2h of collection by using the recovery technique with some modifications (4). Firstly, faecal samples were homogenized and filtered under running water through sieves with a mesh size of 125, 63 and 38 µm, respectively. Next, the eggs retained on the last sieve were washed and centrifuged for 3 min at 1500 rpm with distilled water, after which the supernatant was discarded. In the end, centrifugation was performed using 40% sugar solution to float the eggs. Then, eggs were isolated in new tubes, mixed with distilled water and then centrifuged two more times in order to remove pallets and to get aqueous solution with eggs.

In vitro ovicidal activity of *Juniperus communis* was examined using the egg hatch assay, which is commonly used to test the efficacy of antiparasitic drugs and presence of parasitic resistance (12). 24-well plates, containing aqueous solutions of approximately 150 eggs/well, were used as proposed by literature with some modifications (13). A six different concentrations of *J. communis* EO (50, 12.5, 3.125, 0.781, 0,195 and 0.049 mg/mL) were emulsified in Tween 80 (3%, v/v) and completed with distilled water in a final volume of 0.5 mL/well. After incubation for 48h at the 27°C, the number of eggs and first-stage (L_1) larvae were counted under an inverted microscope and compared to the controls. The positive control was thiabendazole at a concentration of 0.025 mg/mL, and the negative control was Tween 80 (3%, v/v). The experiment was performed two times with two replicates each, and the results were expressed as the mean percentage of egg hatching.

Coproculture - In order to determine what exactly species of gastrointestinal nematodes were *in vitro* tested on the efficacy of *J. communis* EO, coproculture was performed. Faecal samples in a plastic box, covered by cellophane bag with holes, were left to incubation for 10 days (24-27°C). After, cellophane bag was removed and the warm water was added and left to incubation for 4h at room temperature. Next step were two filtrations by using large-hole and small-hole sieves to discard the supernatant and get a suspension with L_3 larvas. This suspension was put at Baerman

apparatus and left to incubation during 24h at room temperature. After centrifugation and discarding the supernatant, L_3 larvas were observed under an inverted microscope and identified using a morphological key (14).

Statistical analysis – As proposed by the literature (15), the mean percentage of egg hatching was calculated by using the following formula: IH (%) = Number of eggs / (number of eggs + number of larvae (L1)) x 100. Data on inhibition of hatchability (IH) were analyzed in order to compare values obtained for different concentrations with each other and with controls (+ and -). For this purpose, one-way analysis of variance (ANOVA) was applied followed by Tukey's test ($p<0.05$), using program GraphPad Prism 8.3.1.

RESULTS

The results of gas chromatography and mass spectrometry analyses showed a rich composition of *J. communis* EO, with a large number of potentially pharmacologically active substances. In total, 28 different substances were identified, whereby the most represented components were α-pinene (40.46%), sabinene (14.04%), myrcene (8.87%), limonene (4.95%), terpinen-4-ol (2.85%), β-pinene (2.70%), germacrene D (2.52%) δ-cadinene (2.46%), germacrene B (2.32%) and p-cymene (1.94%).

In vitro egg hatch test conducted in this study showed high activity of *J. communis* EO against GINs eggs. The inhibitory effect on hatchability varied from 81% to 96.75% and all concentrations tested showed a significantly higher efficacy compared to the negative control ($p<0.001$). For the three highest concentrations, the effect was similar to that of thiabendazole ($p>0.05$) (table 1).

The results of coproculture examination are shown in table 2. On both farms, four genera of sheep gastrointestinal nematodes were identified, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia* and *Chabertia*.

Table 1. Efficacy percentage (mean ± standard deviation) of Juniperus communis essential oil on egg hatching of sheep gastrointestinal nematodes

Treatment	Inhibition of hatchability
50 mg/mL	96.75 ± 1.71^{a}
12.5 mg/mL	95.5 ± 1.73^{ab}
3.125 mg/mL	94.75 ± 0.96^{ab}
0.781 mg/mL	91 ± 1.63^{b}
0.195 mg/mL	85.5 ± 0.58^{c}
0.049 mg/mL	81 ± 1.63^{c}
Thiabendazole, 0.025 mg/mL (+)	98 ± 0.82^{a}
Tween 80, 3% (-)	16.75 ± 5.56^{d}

**Values with different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$)*

Table 2. Identified sheep GINs and their presence (%) on both examined farm

Farm	*Haemonchus* spp.	*Trichostrongylus* spp.	*Teladorsagia* spp.	*Chabertia* spp.
Tobia Morena	59	26	11	4
Lullo Massimo	47	33	18	2
Total	53	29.5	14.5	3

DISCUSSION

Parasitic nematodes of the gastrointestinal tract remain a major constraint associated with the breeding of sheep under grazing or browsing conditions (16). Among them, the most common parasites are *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus* spp., *Teladorsagia* spp., *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora*. In addition, anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes has been developed and reported worldwide in multiple nematode and livestock species (17). In European countries, AR mainly concerns resistance against benzimidazoles and isolated cases of resistance against macrocyclic lactones (18). For these reasons, need to find new strategies for controlling these parasites have arisen, whereby essential oils of various plants are often mentioned in this context. However, although essential oils are widely used to prevent and treat human diseases, little is known about their use in veterinary medicine (19).

As mentioned before, common juniper is a well known medicinal herb that has long been used in a folk medicine. For this purpose, whole or different parts of the plant such as berries, fruit, bark or areal parts are used (20). In various studies, its antibacterial activity has been demonstrated against many bacterial species including both gram+ (*B. subtilis*, *S. auereus*) and gram- microorganisms (*P. aeruginosa*, *P. mirabilis*), although some species were resistant or poorly sensitive. Particularly high activity was observed against various fungi, especially dermatophytes and different *Candida* species. In these studies, α-pinene, β-pinene, sabinene, myrcene and limonene were also main compounds (21,22,23). There are also many reports about hepatoprotective, anti-inflammatory, antioxidant, antihyperlipidemic, analgesic, antimalarial, antihypercholesterolemic, anticataleptic, neuroprotective and many other activities of *Juniperus communis* (20). These medicinal properties can be used also for treating various diseases in animals.

Juniperus communis is also considered to be used as a nutraceutical in veterinary medicine (9). This and many other plants can be added into animal feed and be used in routine feeding practice as a preventive/treatment measure against many diseases. There are already some data about sporadic use of these plants for controlling internal parasites in ruminants, although most of this information are anecdotal and needs further verification. However, using of medicinal plants and their products as a feed supplements/additives instead of chemical drug may be considered a feasible approach in a controlling sheep GINs, which can also be important from an AR perspective (24). Nevertheless, addition further studies are needed to validate these assumptions.

In the present study, the high ovicidal anthelmintic potential of *J. communis* EO against sheep gastrointestinal nematodes was demonstrated. With slight differences, all concentrations tested were showed the high inhibitory effect on the egg hatching. It can be assumed that demonstrated efficacy is probably associated with its rich composition and synergistic effect of different compounds of EO tested. These compounds are already considered medically relevant because of their proven antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, sedative, anticancer and many other properties (25, 26). This corresponds with previously mentioned activities of J. communis. More importantly in context of this study, these compounds are also represented in various essential oils with a proven in vitro anthelmintic effect against GINs of small ruminants. For example, limonene was well represented in *Citrus aurantifola* (56.37%) and *Eucalyptus staigeriana* (28.82%), α-pinene in *Rosmarinus officinalis* (14.76%), β-pinene in *Citrus aurantifolia* (11.86%), sabinene in *Anthemis nobile* (6.27%) and myrcene in *Lippia sidoides* (5.43%) essential oil (1, 4, 7, 27). Other components of *Juniperus communis* EO identified in this

study were also represented in these and similar studies in different percentages.

Egg hatch test, which is used in this study, is commonly used to test the efficacy of antiparasitic drugs and presence of parasitic resistance (12). This test is considered reliable and, like other *in vitro* tests, is advantageous for the choice of substances to be tested *in vivo* (13). The main advantages of the use of these tests prior to *in vivo* tests are the need for a smaller number of animals and time and cost savings. However, EOs that are effective in vitro are not necessarily effective to the same extent in the field conditions (7), which is especially true for ruminants because of their anatomical and physiological characteristics of the gastrointestinal tract. Therefore, *in vitro* assays are useful as a basis for the selection of potential active substances, and they can be used as the first step in a demonstrating the efficacy of certain medication based on which further *in vivo* testing can be planned (28). Thus, high ovicidal activity of *J. communis* EO against sheep GIN demonstrated in this study need to be confirmed in further *in vivo* testing.

CONCLUSION

This study showed the *in vitro* anthelmintic, ovicidal potential of *Juniperus communis* essential oil against sheep gastrointestinal nematodes. This is another confirmation of the possible importance of medicinal plants and their ingredients for veterinary medicine. That can be of particular importance nowadays because of the decreasing efficacy of commercial anthelmintics due to the development of anthelmintic resistance. However, these results need confirmation in further testing in field conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was part of the STSM (Short Term Scientific Mission) titled "*The methodology of the diagnostics of parasitic infections and methods for evaluating the efficacy of antiparasitic drugs"* of COST Action COMBAR (Combatting Anthelmintic Resistance in Ruminants), number CA16230. Special thanks to the STSM Coordinator Dr Maria Martinez-Valladares, who approved this STSM and the Grant Holder Dr Smaragda Sotiraki, who approved the financial support from the COST network for this STSM.

LITERATURE

1. *Macedo I.T.F., Bevilaqua C.M.I, de Oliveira L.M.B, Camurça-Vasconcelos A.L.F., Vieira L.S., Oliveira F.R., Queiroz-Junior E.M., Tome A.R., Nascimento N.R.F. Anthelmintic effect of Eucalyptus staigeriana essential oil against goat gastrointestinal nematodes. Veterinary Parasitology 2010, 173: 93-98.*
2. *D`Ambola M., Bosco A.; Ariano A, Rinaldi L, Bader A, Amadesi A, Cringoli G, Severino L. In vitro anthelminthic efficacy of Hypoestes forskaolii (Vahl) R.Br (Acanthaceae) extracts on gastrointestinal nematodes of sheep. Veterinary Sciences 2018, 5(4):89.*
3. *Chagas A.C.S., Figueiredo A., Politi F.A.S., Moro I.J., Esteves S.N., Bizzo H.R., Gama P.E., Chaves F.C.M. Efficacy of essential oils from plants cultivated in the Amazonian Biome against gastrointestinal nematodes in sheep. Journal of Parasitic Diseases: official organ of the Indian Society for Parasitology 2018, 42(3):357-364.*
4. *Pinto N.B., de Castro L.M., Azambuja R.H.M., Capella G.D.A., de Moura M.Q., Terto W.D., Freitag R.A., Jeske S.T., Villela M.M., Cleff M.B., Leite F.P.L. Ovicidal and larvicidal potential of Rosmarinus officinalis to control gastrointestinal nematodes of sheep. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology 2019, 28(4):807-811.*

5. *Zieneldin M., Abdelmegeid M., Barakat R., Ghanem M. A Review: Herbal Medicine as an Effective Therapeutic Approach for Treating Digestive Disorders in Small Ruminants. Alexandria Journal of Veterinary Sciences 2018, 56(1):33-44.*
6. *Butnariu M., Sarac I. Essential oils from plants. Journal of biotechnology and biomedical science 2018, 1(4):35-43.*
7. *Ferreira L.E., Benincasa B.I., Fachin A.L., França S.C., Contini S.S.H.T., Chagas A.C.S., Beleboni R.O. Thymus vulgaris L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against Haemonchus contortus from sheep. Veterinary Parasitology 2016, 228: 70-76.*
8. *Mastelić J., Mladen M., Kuštrak D., Radonić A. Essential oil and glycosidically bound volatile compounds from the needles of common juniper (Juniperus communis L.). Croatica Chemica Acta 2000, 73(2):585-593.*
9. *Raina R., Verma P.K., Peshin R., Kour H. Potential of Juniperus communis L as a nutraceutical in human and veterinary medicine. Heliyon 2019, 5(8):e02376.*
10. *Živić N., Milošević S., Dekić V., Dekić B., Ristić N., Ristić M., Sretić Lj. Phytochemical and antioxidant screening of some extracts of Juniperus communis L. and Juniperus oxycedrus L. Czech Journal of Food Sciences 2019, 37(5):351-358.*
11. *Adams R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Illinois: Allured, 2012.*
12. *Robles-Perez D., Martinez-Perey J.M., Rojo-Vazguez F.A., Martinez-Valladares M. 2014 Development of an egg hatch assay for the detection of anthelmintic resistance to albendazole in Fasciola hepatica isolated from sheep. Veterinary Parasitology 2014, 203(1-2):217-221.*
13. *Ferreira L.E., Benincasa B.I., Fachin A.L., Contini S.H.T., França S.C, Chagas A.C.S., Beleboni R.O. Essential oils of Citrus aurantifola, Anthemis Nobile and Lavandula Officinalis: in vitro anthelmintic activities against Haemonchus contortus. Parasites & Vectors 2018, 11(1):269.*
14. *van Wyk J.A., Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. The Onderstepoort Journal of Veterinary Research 2013, 80(1):539.*
15. *Macedo I.T.F, de Oliveira L.M.B., Andre W.B.P., Filho J.V.A., dos Santos J.M.L., Rondon F.C.M., Ribeiro W.L.C., Camurça-Vasconcelos A.L.F., de Oliveira E.F., de Paula H.C.B., Bevilaqua C.M.L. Anthelmintic effect of Cymbopogon citratus essential oil and its nanoemulsion on sheep gastrointestinal nematodes. Brazilian Journal of Veterinary Parasitology 2019, 28(3):522-527.*
16. *Torres-Acosta J.F.J., Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. Small Ruminant Research 2008, 77(2-3):159-173.*
17. *Rose H., Rinaldi L., Bosco A., Mavrot F., de Waal T., Skuce P., Charlier J., Torgerson P.R., Hertzberg H., Hendrickx G., Vercruysse J., Morgan E.R. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. The Veterinary Record 2015, 176(21):546.*
18. *Dolinská M., Ivanišinová O., Königová A., and Várady M. Anthelmintic resistance in sheep gastrointestinal nematodes in Slovakia detected by in-vitro methods. BMC Veterinary Research 2014, 10:233.*
19. *Ratajac R., Stojanović D., Petrović J.M., Milanov D., Vasić R., Stojanov I., Lako B. Antibacterial activity of the essential oil of Mountain Savory (Satureja montana) against Arcanobacterium pyogenes. Planta Medica 2011, 77(12): 1457.*
20. *Bais S., Gill N.S., Rana N., Shandil S. A phytopharmacological review on a medicinal plant: Juniperus communis. International Scholarly Research Notices 2014, 1-6.*
21. *Glišić S.B., Milojević S.Ž., Dimitrijević S.I., Orlović A.M., Skala D.U. Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of Juniperus communis L. and a comparison with some commercial antibiotics. Journal of the Serbian Chemical Society 2014, 72(4):311-320.*
22. *Mahmutović-Dizdarević I., Dahija S., Bešta-Gajević R., Karalija E. Biological activity of Juniperus communis L. extracts. 28th International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 27-29. September, 2017.*
23. *Pepeljnjak S., Kosalec I., Kalođera Z., Blažević N. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (Juniperus communis L., Cupressaceae). Acta Pharmaceutica 2005, 55: 417-422.*

24. *Sahoo A., Khan F.A. Nutritional and biological control synergism against gastrointestinal nematodes in small ruminants. Journal of Veterinary Medicine & Animal Husbandry 2016, 4(1):1-13.*
25. *Erasto P., Viljoen A. Limonene – a review: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. Natural product communications 2008, 3(7):1193-1202.*
26. *Pinheiro M.A., Magalhães R.M., Torres D.M., Cavalcante R.C., Mota F.S.X., Coelho E.M.A.O., Moreira H.P., Lima G.C., Araújo P.C.C., Cardoso J.H.L., de Souza A.N.C., Diniz L.R.L. Gastroprotective effect of alpha-pinene and its correlation with antiulcerogenic activity of essential oils obtained from Hyptis species. Pharmacognosy Magazine 2015, 11(41):123-130.*
27. *Camurça-Vasconcelos A.L.F., Bevilaqua C.M.L., Morais S.M., Maciel M.V., Costa C.T.C., Macedo I.T.F., Oliveira L.M.B., Braga R.R., Silva R.A., Vieira L.S. 2007. Anthelmintic activity of Croton zehntneri and Lippia sidoides essential oils. Veterinary parasitology 2007, 148: 288-294.*
28. *Hoste H., Torres-Acosta J.F., Alonso-Diaz M.A., Brunet S., Sandoval-Castro C., Adote S.H. Identification and validation of bioactive plants for the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants. Tropical Biomedicine 2008, 25(1 Suppl):56-72.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 57.089
Toholj et al., pp 160-163

PRIKAZ SLUČAJA HIRURŠKE SANACIJE BILATERALNE FRAKTURE LAKATOG ZGLOBA KOD PSA

SURGICAL REPAIR OF THE BILATERAL FRACTURE OF THE LIGHT JOINT IN THE DOG – CASE REPORT

Bojan Toholj[a*], Jovan Spasojević[a], Ivan Galić[a], Ivan Stančić[a]

[a]*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Veterinarska klinika*
[a]*University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Departmnet of veterinary medicine, Veterinary teaching hospital*
[*]*autor za kontak: bojantoholj@gmail.com*

SAŽETAK

Frakture kostiju su najčešće ortopedsko oboljenje kod pasa. Klasifikacija fraktura se može načiniti po više osnova. Među, njima se po svom značaju naročito izdvajaju tzv. zglobne frakture zbog. Pravilo u terapiji ovih fraktura je da se one moraju tretirati urgentno, pogotovo ako je reč o mladoj životinji i da se moraju primeniti principi tzv. rigidne osteosinteze koji će garantovati apsolutnu repoziciju ulomaka i savršeno poklapanje zglobnih struktura. Samo oavakav način obezbeđuje potpuni povrat funkcije i očuvanja pokretljivosti u zglobu. U radu koji opisujemo za pacijenta smo imali psa starosti tri meseca. Fraktura distalnog humerusa obe strane, je sanirana primenom vijaka i klinova. Oslanjanje je uočeno već prvog dana postoperativno, sa laganim i potpunim povratom funkcije u narednim danima.

Ključne reči: fraktura, zglobni lom, osteosinteza.

ABSTRACT

Bone fractures are the most common orthopedic condition in dogs. The classification of fractures can be made on several basis. Among them, the joint fractures are especially important. The rule in the treatment of these fractures is that they must be treated urgently, especially in the case of a young animal, and that principles of rigid osteosynthesis must be applied that will guarantee absolute reposition of the fragments and perfect match of the articular structures. Only this way ensures complete restoration of function and preservation of joint mobility. In this paper we describe, a treatment of bilateral elbow joint fracture at a three months old dog. The fracture of the distal humerus on both sides was repaired using screws and kirchner wires. Both limb usage was observed first day postoperatively, with a slight and complete return to function in the following days.

Keywords: fracture, joint fracture, osteosynthesis.

UVOD

Frakture humerusa čine oko 10% svih fraktura ekstremiteta (1). Proksimalni deo humerusa je prekriven i zaštićen velikim mišićnim strukturama, triceps, biceps, a i sama koštana osnova humerusa je u proksimalnom delu snažnija. Međutim, ovo nije slučaj u predelu distalnog humerusa gde je manje izražena mišićna masa, a i sam humerus je manjeg promera. Zbog toga se najveći procenat fraktura humerusa upravo javlja u distalnom delu kosti, a naročito često je frakturom pogođeni kondili humerusa kao *locus minoris resistentiae* (2). U terapiji zglobnih fraktura primenjuje se načelo rigidne osteosinteze. Tako je glavni cilj terapije frakture kondila stabilizacija kondila povezivanjem za dijafizu humerusa i apsolutno poravnanje zglobne površine. Ovo se najčešće postiže otvorenim pristupom i potpunom ekspozicijom koštanih struktura koje je potrebno osteosintezom anatomski potpuno poravnati.

PRIKAZ ZAHVATA I SLUČAJA

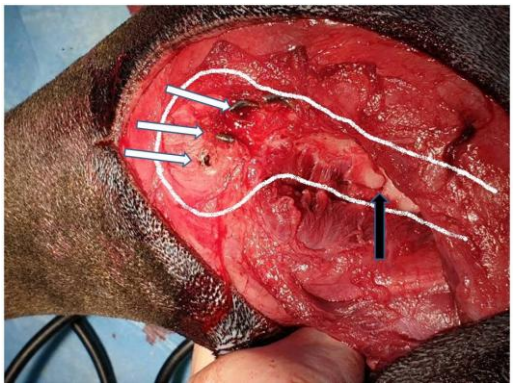
Pas, starosti tri meseca, rase rotvajler je doveden na kliniku uz anamnestičke podatke da je boravio u dvorištu vlasnikove kuće i da ga je vlasnik zatekao kako cvili i ne može da se podigne na prednje ekstremitete. Vlasnik pretpostavlja da je povreda nastala prilikom pada ili skoka preko ograde ili pada niz stepenice unutar dvorišta. Na pregledu je pas svestan, orijentisan, telesne temperature 38,5° C sa pulsom 110 i disanjem od 17 respiracija u minuti. Auskultatorni nalaz nad plućima i srcem je bez osobenosti. Turgor kože je očuvan, sluzokože su roze boje i vlažne, očuvanog vremena punjanja kapilara. Pas je zadovoljavajuće kondicije i eksterijernih proporcija karakterističnih za uzrast, pol i rasu. Ne odaje znake nikakvih drugih oboljenja. Oba lakatna zgloba su otečena i bolna na palpaciju. Prilikom pokreta u zglobu osete se krepitacije na koje pas bolno reaguje. Nakon inicijalnog pregleda, postavljen je zavoj za imobilizaciju ekstremiteta po tipu Robert-Džonsa, a zatim je izvršeno rendgensko snimanje u anterioposteriornoj i mediolateralnoj projekciji oba lakatna zgloba zgloba, sa strukturama nadlaktice i podlaktice. Na rendgenskim snimcima (Slika 1) se uočava prelom distalnog dela radijusa i to prelom lateralnog kondila i interkondilarna fraktura, klasifikacija po Salter-Harisu tip 4. Nakon uobičajene preoperativne pripreme hirurški zahvat je izveden u inhalacionoj anesteziji sa endotrahealnom intubacijom.

Za premedikaciju opšte anestezije koristili smo medetomidin 4 mcg/kg (Domitor, Iris pharm), midazolam 0,2 mg/kg (Dormicum, Roche). Antibiotska profilaksa je obezbeđena i.v primenom antibiotika ceftriakson 20 mg/kg (Longacef, Hemofarm), pola sata pre plasiranja reza. Indukcija opšte anestezije je izvršena sa ketaminom 2 mg/kg (Ketamidor, Richter pharma), a održavanje sa sevofluranom. Tokom operacije analgezija je obezbeđena kontinuiranom i.v. aplikacijom fentanila. Načinjen je kaudo-lateralni pristup lakatnom zglobu prema Turner-u i Hohn-u (Slika 2). Rez kroz kožu se plasira od distalne trećine humerusa preko lateralnog humeralnog kondila, zatim se usmerava kaudalno od epikondila i distalno preko lakatnog zgloba do proksimalne trećine podlaktice tj. ulne. Nakon preparisanja potkožne fascije i tkiva, pristup lateralnom kondilu je obezbeđen rezom između duboke antebrahijalne fascije i kranijalne granice lateralne glave tricepsa. Kondilarni lom je stabilizovan transkondilarnim pinom koji je usmeravan kroz kondil u medijalni korteks metafize humerusa. Interkondilarna zglobna fraktura je stabilizovana upotrebom 3,5 mm kortikalnog vijka koji je postavljen u priteznom modu u cilju postizanja interfragmentarne kompresije (Slika 3). Na rendgenskom snimku postoperativno (Slika 4) uočava se potpuna anatomska repozicija ulomaka i položaj aplikovanih alanteza. Apsolutna stabilnost i rigidnost u liniji frakture je dodatno obezbeđena postavljanjem antirotacijskog pina transkondilarno. Postoperativno je postavljen Robert-Džonsov zavoj, a vlasnik je

posavetovan o režimu nege i kontrola. U postoperativnom periodu analgezija je obezbeđivana peroralnom aplikacijom ketoprofena (Rycarfa 4 mg/kg) četri uzastopna dana posle operacije. Antibiotska zaštita je izvršena i.v. primenom antibiotika ceftriakson 10 mg/kg (Longaceph, Hemofarm). Dan posle operacije na prvoj kontroli rana i lokalni nalaz je uradan, a vlasnik prijavljuje da je pas se pridizao i načinio nekoliko koraka. Nakon 12 dana uklonjeni su konci a pas je izdašno koračao, što je isti nalaz i na kontrolama koje su usledile nakon toga (Slika 5).

U stečena traumatska oboljenja lakatnog zgloba ubrajaju se: frakture kondila humerusa, fraktura medijalnog epikondila humerusa, fraktura proksimalnog dela ulne i olekranona, fraktura ankonealnog izdanka, fraktura glave radiusa, luksacije, fraktura ulne sa luksacijom glave radiusa (Monteggia fraktura), avulzije i rupture tetive bicepsa i ligamenata (3). Od svih ovih traumatskih stanja lakatnog zgloba kondilarne frakture humerusa su najčešće po svojoj incidenci. Kondilarne frakture najčešće nastaju kao posledica dejstva sle koja deluje preko glave radiusa na ramenu kost. Budući da se glaav radijusa anatomsku uzglobaljava sa lateralnim kondilom i da je latealni kondil manjih dimenzija od medijalnog to su i frakture lateralnog kondila učestalije. Tako frakture lateralnog kondila se javljaju u 56% slučajeva, interkondilarne frakture se javljaju kod 33% slučajev, dok se izolovane frakture medijalnog kondila javljaju znatno ređe 11% (4). Slične podatke navodi i (5) na 133 ispitana slučaja on nalazi 57% fraktura lateralnog kondila, 40% interkondilarnih fraktura i 3% fraktura medijalnog kondila. Padovi, skokovi i nalgi zaokreti prilikom trčanja su najčešći uzroci frakture lateralnog ili medijalnog kondila dok interkondilarne frakture su najčešće prouzrokovane udarcom automobila. Frakture lateralnog ili medijalnog kondila su najčešće kod mladih pasa, dok se interkondilarne frakture podjednako javljaju i kod starijih i kod mlađih kategorija pasa (3). U terapiji se uvek pominje hirurška stabilizacija ulomaka. Otvoreni pristup uz ekspoziciju ulomaka je standardni način lečenja, mada se kod malih rasa može primeniti i zatvoreni pristup sa perkutanom aplikacijom alanteza prvenstveno Kiršnerovih žica.

Slika 1. Rendgenski snimci pacijenta. Uočava se prelom lateralnog kondila humerusa i prelom trochlei humeri



Slika 2. Kaudolateralni pristup lakatnom zglobu (levo)
Slika 3. Intraoperativna fotografija na kojoj se vidi fraltura lateralnog kondila (bela strelica), kao i postavljene alanteze, kondilarni klinovi, antirotacijski pin i pritezni vijak (crne strelice). Na slici je prikazana i kontura distalnog dela humerusa. (desno)

Slika 4. Postoperativni rendgenogram, na snimku se vidi apsolutno poravnavanje ulomaka i pozicije alanteza (levo)
Slika 5. Oslanjanje i potpuna upotreba ekstremiteta postoperativno (desno)

LITERATURA

1. *Johnson J.A., Austin C., Breur G.J. Incidence of canine appendicular musculoskeletal disorders in 16 veterinary teaching hospitals from 1980 through 1989. Vet Comp Orthop Traumatol 1994, 7(2):56-69.*
2. *Moores A. Humeral condylar fractures and incomplete ossification of the humeral condyle in dogs. In Practice 2006, 28(7):391-397.*
3. *Denny Hamish R. Clinical Investigation and Treatment of Traumatic Elbow Conditions World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, Cedar House Wrington, Nr Bristol, 2004.*
4. *Denny H.R. Condylar fractures of the humerus in the dog: a review of 133 cases. Journal of Small Animal Practice 1983, 24:185-97*
5. *Butterworth, S.J, Innes J.F. Incomplete humeral condylar fractures in the dog. Journal of Small Animal Practice 2001, 42:394-398.*

VETERINARSKI PREGLED / VETERINARY REVIEW, Vol 1, No1, 2020
ISSN: 2683-5932; ISSN(Online): 2683-5924; UDK 598.288.8
Vidović et al., pp 164-167

MEGABAKTERIOZA KOD TIGRICA I NIMFI – PRIKAZ SLUČAJA

MEGABACTERIOSIS IN BUDGERIGARS AND COCKATIEL- CASE REPORT

Bojana Vidović[a*], Nikolina Novakov[a]

[a]*Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*
[a]*Department of veterinary medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad*
**autor za kontakt: bojana.vidovic@polj.uns.ac.rs*

SAŽETAK

Megabakterioza je bolest koja se poslednjih godina sve češće dijagnostikuje kod ukrasnih ptica iz skoro svih zemalja. Dugo vremena ovaj se uzročnik smatrao bakterijom, ali je tek nedavno, od 2003. godine, potvrđeno da se radi o gljivici, koja pripada rodu Aktinomiceta, nazvanoj *Macrorhabdus ornithogaster*. Mikroorganizmi su se pod mikroskopom prikazali kao gram pozitivni dugi bacilli. Bolest se dijagnostikuje na osnovu anamneze, kliničke slike i dokazom uzročnika mikroskopskom pretragom brisa voljke kao i izmeta ptica. Takođe, mogu se koristiti i molekularne probe, poput PCR koje su u upotrebi onda, kada je uzročnika nemoguće dokazati mikroskopskim pregledom. Praćenjem pacijenata u Klinici departmana za veterinarsku medicinu u Novom Sadu, utvrđena je pojava ove bolesti, naročito kod tigrica (*Melopsittacus undulatus*) i nimfi (*Nymphicus hollandicus).*

Ključne reči: megabakterioza, kavezne ptice, gljivica, *Macrorhabdus ornithogaster*.

ABSTRACT

Megabacteriosis is a disease that has been increasingly diagnosed with ornamental birds in almost all countries in recent years. This pathogen has long been considered a bacterium and has only recently, since 2003, been confirmed to be a fungus belonging to the genus Aktinomycetes, called Macrorhabdus ornithogaster. The microorganisms were presented under the microscope as gram positive long bacilli. Molecular probes, such as PCR, can also be used when it is impossible to prove the pathogen by microscopic examination. Monitoring of patients at the Department of Veterinary Medicine Clinic in Novi Sad has established the occurrence of this disease, especially in budgerigars (Melopsittacus undulatus) and cockatiel (Nymphicus hollandicus).

Key words: megabacteriosis, cage birds, fungus, Macrorhabdus ornithogaster.

UVOD

Dugi niz godina se verovalo da je Megabakterija gram pozitivna bakterija. Tek od 2003. godine utvrdilo se da se radi o gljivici koja je nazvana *Macrorhabdus ornithogaster*. U pitanju je anamorfna gljiva iz grupe askomiceta koja se može promaći u istmusu želuca između žlezdanog i mišićnog želuca ptica (1).

Megabakterija je 1977. godine prvobitno opisana kod tigrica (*Melopsittacus*

undulatus) i to kao sindrom slabljenja ptica (2). Nakon toga opisana je kod ostalih vrsta ptica sa ili bez kliničkih znakova ali i patološkog nalaza (3). Iako je učestalost pojave megabakterioze, odnosno njeno otkrivanje i dijagnoza, značajno porasla tokom poslednjih godina, informacije o njenim biopatološkim karakteristikama kao i terapijskim merama su nedovoljne u naučnoj literaturi (4).

Postaviti dijagnozu tokom života ptice može biti veliki izazov. Veoma često sreće se anemija i smanjena količina elektrolita. Ponekad se može javiti i heterofilija, leukocitoza, bazofilija i trombocitopenija. Konačna dijagnoza postavlja se na osnovu patohistološkog nalaza obzirom da se uzročnik nakuplja na prelazu žlezdanog u mišićni želudac i neobično je osetljiv na niži pH te izaziva ulceracije, hipersekreciju sluzi i krvarenje. Takođe, *M. ornithogaster* može se detektovati u razmazu izmeta, strugotinama sluznice žlezdanog želudca ili citološkim uzorcima bojenim prema Gramu (5).

Kontrola i lečenje ovog oboljenja predstavlja izazov za kliničare. Subklinička infekcija može se pojaviti i bez vidljivih kliničkih znakova te je upravo iz ovog razloga gotovo nemoguće održati kavezne ptice, kada ih ima više, slobodne od infekcije (6). Sa druge strane, utvrđeno je da mnogi antimikrobni i antigljivični lekovi, poput preparata joda, nistatina, flukonazola, ketokonazola, itrakonazola i drugih, nisu bili efikasni u lečenju infekcije (7). Kao najefikasniji tretman pokazao se Amfotericin-B ali i natrijum benzoat u pojedinim slučajevima (5).

Cilj ovog rada je da se dokaže pojava megabakterioze kod tigrica i nimfi.

PRIKAZ I ANALIZA SLUČAJEVA

Istraživanje je vršeno u veterinarskoj stanici PanVet u Subotici kao i veterinarskoj ambulanti Dog point u Novom Sadu u periodu od oktobra 2019. godine do januara 2020. godine. U ovom periodu ukupno je pregledano 7 ptica (4 tigrice i 3 nimfe) različite starosne dobi. Ptice su naizgled delovale zdravo. Iz anamnestičkih podataka je dobijen nalaz da ptice uzimaju hranu halapljivo, ali prilikom palpacije grudne muskulature ptica je utvrđeno da su one kahektične. Pojedine ptice su pokazivale blage znakove depresije, regurgitacije nesvarene hrane i dijareje.

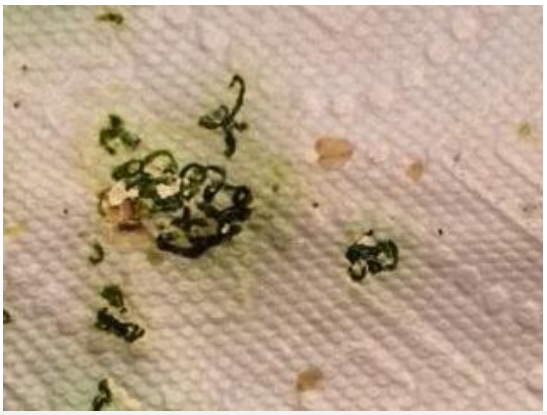
Za mikroskopsku analizu uzet je izmet ptica (slika 1), koji se skupljao u toku 24h i koji je dalje analiziran. Za detekciju gljivica iz izmeta, koristilo se modifikovano bojenje Diff-quik.

Prilikom kliničkog pregleda ispitivanih ptica, uočeno je nekoliko karakteristilnih kliničkih simptoma, koji su prikazani u tabeli 1. Analizom uzoraka izmeta svih sedam ptica, uočen je uzročnik *Macrorhabdus ornithogaster* (slike 2 i 3).

Megabakterija je gljivično oboljenje koje je u poodmuklom stadijumu veoma teško izlečiti, te neretko završava smrtnim ishodom. Do skoro, bolesti se nije pridavao preteran značaj, međutim ispostavilo se da je veoma bitna jer uzrokuje probleme kako kod pojedinačno držanih ptica tako i kod ptica koje se drže u grupama ili u odgajivačnicama (8).

Većina infekcija dolazi putem feko-oralne kontaminacije od strane bolesnih ili subklinički zaraženih ptica. Najveći problem upravo predstavlja činjenica da su klinički simptomi često nespecifični, te bolesna ptica ne mora pokazivati znake bolesti, ali je i te kako može prenositi. Uzročnika bolesti zdrava ptica može nositi u svom želucu bez ikakvih očiglednih kliničkih znakova te je često jedini pokazatelj kliničke bolesti obilan izmet (6). Sa druge strane, kada su simptomi prisutni, javlja se depresija, dijareja, regurgitacija, nakostrešeno perije kao i letargija što zavisi od stepena infestacije uzročnikom (9). Međutim, u toku ovog istraživanja, sve pregledane ptice su bile kahektične. Klinički znaci kod tigrica uključivali su hronično mršavljenje, regurgitaciju dok se kod pojedinih javljala uz regurgitaciju i dijareja (10). Klinički znaci kod nimfi bili su slični onima nađenim kod tigrica (Tabela 1). Zbog visokog stepena

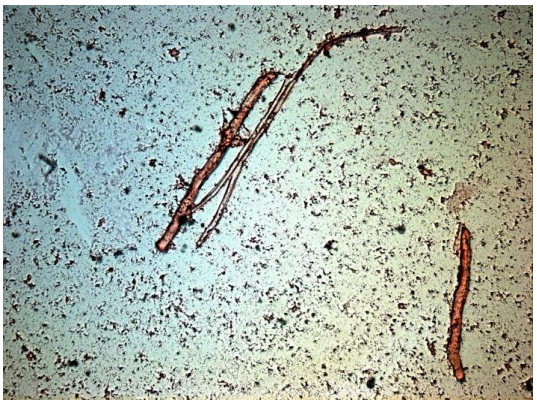
rasprostranjenosti neophodan je stalan monitoring, bolja terapija, temeljno mehaničko čišćenje kaveza, pojilica i hranilica odnosno poboljšanje biosigurnosnih mera kako pojedinačno držanih ptica tako i ptica u odgajivačnicama, pet shop-ovima i dr.



Slika 1. Izmet koji je prikupljan za dijagnostiku

Tabela 1. Klinički znaci kod ispitivanih ptica

Vrsta ptice	Klinički znaci		
	Kaheksija	Regurgitacija	Dijareja
Tigrica 1	+	+	+
Tigrica 2	+	+	
Tigrica 3	+	+	
Tigrica 4	+		+
Nimfa 1	+	+	+
Nimfa 2	+	+	
Nimfa 3	+		+



Slika 2. Megabakterija (*Macrorhabdus ornithogaster*) izolovana iz izmeta ptica, bojena Diff quik-om (levo).
Slika 3. Megabakterija (*Macrorhabdus ornithogaster*) izolovana iz izmeta ptica, bojena Diff quik-om (desno).

ZAKLJUČAK

Na osnovu nalaza, može se zaključiti da megabakterioza uzima sve veći značaj u našoj zemlji, kao i da treba posvetiti veću pažnju ovoj bolesti, pratiti ptice koje su izrazito prijemčive te raditi na preventivi koliko god je to moguće. Obzirom na sve veću učestalost ove bolesti kod ptica kućnih ljubimaca, prepoznavanje kliničkih znakova od strane vlasnika ali i veterinara u ranom stadijumu ove bolesti od ključnog je značaja u cilju postavljanja pravilne dijagnoze bolesti.

ZAHVALNICA

Rezultati istraživanja u ovom radu su dobijeni zahvaljujući projektu Fonda za inovacionu delatnost (ID br. 496 i ID br. 555).

LITERATURA

1. *Tomaszewski E.K., Logan K.S., Snowden K.F., Kurtzman C.P., Phalen D.N. Phylogenetic analysis identifies the "megabacterium" of birds as a novel anamorphic ascomycetous yeast, Macrorhabdus ornithogaster gen.nov., sp.nov. Int. J. Syst. Vol. Microbiol. 2003, 53:1201–1205.*
2. *Jones D.M., Carroll C.M.M. Debilitating syndrome in budgerigars (Melopsittacus undulates). Vet. Rec. 1977, 101(10):188.*
3. *Gerlach H. Megabacteriosis. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine 2001, 10(1):12–19.*
4. *Marlier D., Leroy C., Sturbois M., Delleur V., Poulipoulis A., Vindevogel H. Increasing incidence of megabacteriosis in canaries (Serinus canaries domesticus). Vet. J. 2006, 172:549-552.*
5. *Hoppes S. Treatment of Macrorhabdus ornithogaster with sodium benzoate in budgeriagars (Melopsittacus undulates). U: Proceedings of the 23rd Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians, Seattle, SAD. 65, 2012.*
6. *Filippich L.J., Speer B., Powers L.V., Phalen D. Diagnosis and treatment options for megabacteria (Macrorhabdus ornithogaster). J. Avian Med. Surg. 2004, 18(3):189-195.*
7. *Phalen D. Diagnosis and management of Macrorhabdus ornithogaster (formerly Megabacteria). Vet Clin. Exot. Anim. Pract. 2005, 8:299-306.*
8. *Filippich L.J., Herdrikz J.K. Prevalence of megabacteria in budgerigar colonies. Australian Vet. J. 1998, 76:92-95.*
9. *Razmyar J., Movassaghi A.R., Rezaee M. An outbreak of severe Macrorhabdus ornithogaster infection in common canaries (Serinus canaries domesticus), Molecular and pathological assay. Iran. J. Vet. Sci. Technol. 2016, 8(1):64-69.*
10. *Moore R.P., Snowden K.F., Phalen D.N. A method of preventing transmission of so called "Megabacteria" in Budgerigars (Melopsittacus undulates). J. Avian Med. Surg. 2001, 15:283-287.*