



**UNIVERSITY Ss. „CYRIL AND METHODIUS”
УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ”**



**FACULTY OF VETERINARY MEDICINE – SKOPJE
ФАКУЛТЕТ ЗА ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА - СКОПЈЕ**

МАКЕДОНСКИ ВЕТЕРИНАРЕН ПРЕГЛЕД

Вол. 32 Бр.1 стр: 86 2009

Списание на Факултетот за ветеринарна медицина
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“
Скопје, Македонија

Главен и Одговорен Уредник

Проф. д-р Влатко Илиески
vilieski@fvm.ukim.edu.mk

Технички Уредник

Асс. м-р Лазо Пендовски
lpendovski@fvm.ukim.edu.mk

Редакциски Одбор:

д-р Дине Митров, д-р Владимир Петков,
д-р Иванчо Налетоски,
д-р Трпе Ристоски, д-р Ромел Велев,
д-р Павле Секуловски, д-р Благлица Сековска,
д-р Пламен Тројачанец,
д-р Горан Николовски,
м-р Јована Стефановска

Издавачки Совет:

д-р Велимир Стојковски,
д-р Мишо Христовски, д-р Игор Улчар,
д-р Славчо Мреношки, д-р Тони Довенски,

Издавач:

Факултет за ветеринарна
медицина - Скопје



Излегува два пати годишно
во тираж од 300 копии

Адреса:

Македонски ветеринарен преглед
Лазар Поп Трајков 5/7, 1000 Скопје
Тел: ++389 2 3420 700 Факс: ++ 389 2 3114 619
www. fvm.ukim.edu.mk

MACEDONIAN VETERINARY REVIEW

Vol. 32 No.1 pages: 86 2009

Journal of the Faculty of veterinary medicine
University Ss. "Cyril and Methodius"
Skopje, Macedonia

Editor in Chief

Prof. d-r Vlatko Ilieski
vilieski@fvm.ukim.edu.mk

Associate Editor:

Ass. m-r Lazo Pendovski
lpendovski@fvm.ukim.edu.mk

Editorial Board:

d-r Dine Mitrov, d-r Vladimir Petkov,
d-r Ivanko Naletoski,
d-r Trpe Ristoski, d-r Romel Velev,
d-r Pavle Sekulovski, d-r Bлаглица Sekovska,
d-r Plamen Trojancanec,
d-r Goran Nikolovski,
m-r Jovana Stefanovska

Publication Committee:

d-r Velimir Stojkovski,
d-r Miso Hristovski, d-r Igor Ulcar,
d-r Slavco Mrenoski, d-r Toni Dovenski,

Published by:

Faculty for veterinary
medicine - Skopje



Issued twice a year
in 300 copies

Address:

Macedonian veterinary review
Lazar Pop Trajkov 5/7, 1000 Skopje
Tel: ++389 2 3420 700 Fax: ++ 389 2 3114 619
www. fvm.ukim.edu.mk

MACEDONIAN VETERINARY REVIEW
МАКЕДОНСКИ ВЕТЕРИНАРЕН ПРЕГЛЕД

Скопје, 2009

СОДРЖИНА / CONTENT

ЦИРКОВИРУСНИ БОЛЕСТИ КАЈ СВИЊИТЕ (прегледен труд) Ристоски Трпе, Цветковиќ Искра, Segales Joaquim PORCINE CIRCOVIRUS DISEASES (review article) Ristoski Trpe, Cvetkovic Iskra, Segales Joaquim	5
КОМПАРАТИВНА ВАРИЈАБИЛНОСТ НА МИКРОСАТЕЛИТСКА DNA КАЈ ИЗВОРЕН И ИЗВОРНО СЕЛЕКТИРАН СОЈ НА ШАРПЛАНИНСКИОТ ОВЧАРСКИ ПЕС Есмеров Игор, Панов Сашо, Стојковски Велимир, Славковска Адријанае COMPARATIVE ANALYSIS OF MICROSATELLITE DNA IN WELL SARHPLANINIAN SHEPHERD AND WELL SELECTED SARHPLANINIAN SHEPHERD Esmerov Igor, Panov Sasho, Stojkovski Velimir, Slavkovska Adrijana	13
НУТРИТИВНИ ЕФЕКТИ НА АНТИДИЈАБЕТИЧНА ДИЕТА ВРЗ КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА ТКИВНИТЕ АНТИОКСИДАНТИ КАЈ СТАОРЦИ СО ИНДУЦИРАН DIABETES MELLITUS Чрчева-Николовска Радмила, Секуловски Павле, Проданов Ристо NUTRITIONAL EFECTS OF ANTIDIABETIC DIETS ON CONCENTARTION OF TISSUE ANTIOKSIDANT ON RATS WITH INDUCED DIABETES MELLITUS Crceva-Nikolovska Radmila, Sekulovski Pavle, Prodanov Risto	21
АВТОГЕНА ВАКЦИНАЦИЈА ЗА КОНТРОЛА НА ЈЕРСИНИОЗАТА (YERSINIOSIS SALMONIS) ВО САЛМОНИДНАТА АКВАКУЛТУРА ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА Цветковиќ Александар, Христовски Мишо, Стојановски Стојмир, Мреношки Славчо, Цветковиќ Искра AUTOGENOUS VACCINATION FOR CONTROL OF YERSINIOSIS (YERSINIOSIS SALMONIS) IN THE SALMONID AQUACULTURE IN REPUBLIC OF MACEDONIA Cvetkovik Aleksandar, Hristovski Miso, Stojanovski Stojmir, Mrenoski Slavco, Cvetkovik Iskra	29
ФАКТОРИ ЗА ПОЈАВА НА ВИСОК БРОЈ БАКТЕРИИ ВО СУРОВОТО КРАВЈО МЛЕКО Ангеловски Љупчо, Секуловски Павле, Јанкулоски Деан, Раткова Марија, Костова Сандра, Проданов Мирко FACTORS THAT INFLUENCE HIGH BACTERIAL COUNT IN RAW COW MILK Angelovski Ljupco, Sekulovski Pavle, Jankuloski Dean, Ratkova Marija, Kostova Sandra, Prodanov Mirko	37
ИСТРАЖУВАЊЕ ЗА УЛОГАТА НА ОФИЦИЈАЛНИОТ ВЕТЕРИНАР ВО ВКРСТЕНАТА КОНТАМИНАЦИЈА НА ОРГАНИТЕ И ТРУПОТ НА ЛИНИЈА ЗА КОЛЕЊЕ СО ПРИМЕНА НА МАРКЕР МИКРООРГАНИЗМИ Јанкулоски Деан, Проданов Мирко, Ангеловски Љупчо, Раткова Марија, Костова Сандра, Секуловски Павле RESEARCH FOR ROLE OF OFFICIAL VETERINARY INSPECTOR IN CROSS CONTAMINATION OF OFFAL AND CARCASS AT SLAUGHTERLINE WITH USE OF MARKER MICROORGANISMS Jankuloski Dean, Prodanov Mirko, Angelovski Ljupco, Ratkova Marija, Kostova Sandra, Sekulovski Pavle	45
АНАТОМСКА КЛАСИФИКАЦИЈА НА СЕГМЕНТАЛНИТЕ АРТЕРИСКИ ГРАНКИ НА A.RENALIS КАЈ СВИНСКИ БУБРЕЗИ Пендовски Лазо, Илиески Влатко, Петков Владимир, Поповска-Перчиниќ Флорина ANATOMICAL CLASSIFICATION OF THE SEGMENTAL ARTERIAL BRANCHES ON THE RENAL ARTERY IN PIG KIDNEYS Pendovski Lazo, Ilieski Vlatko, Petkov Vladimir, Popovska-Percinic Florina	55
ВЛИЈАНИЕТО НА ФЛУИДНАТА ТЕРАПИЈА ЗА СТАБИЛИЗАЦИЈА НА КУЧИЊА ВО СОСТОЈБА НА ШОК (приказ на случај) Новаков Тодор, Тројачанец Пламен, Матијатко Весна, Велев Ромел, Јуркич Габријела, Илиевска Ксенија INFLUENCE OF FLUID THERAPY FOR STABILIZATION OF DOGS IN SHOCK CAUSED WITH DIFFERENT ETIOLOGY. (case report) Novakov Todor, Trojacanec Plamen, Matijatko Vesna, Velev Romel, Jurkic Gabrijela, Ilievska Ksenija	71
УПАТСТВО ДО АВТОРИТЕ	81

ЦИРКОВИРУСНИ БОЛЕСТИ КАЈ СВИЊИТЕ (прегледен труд)

Ристоски Трпе¹, Цветковиќ Искра², Segales Joaquim³

¹Кајџедра ѓо Пајџолошка морфологџија, Факулџетџи за ветџеринарна медицина-Скојџе

² Кајџедра ѓо Микробиологџија и имунологџија Факулџетџи за ветџеринарна медицина-Скојџе

³ Department de Sanitat i Anatomia Patologica,

Centre de Recera en Sanitat Animal (CReSA), Barcelona, Spain

e-mail: tristoski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Цирковирусој кај свињџиџе џиџи 2 (ЦВС2) џриџага на фамилијаџа Circoviridae. Вирусџиџе од оваа фамилија се каракџиџеризираат како мал, необвиџкан, сферичен вирус, со геном сосџтавен од ссДНА.

Вирусој џричинува глџавно суџклинички инфекции, но бројни заболувања кај свињџиџе се џоврзани со дејсџивувањџето на овој вирус (Цирковирусни болесџиџи кај свињџиџе). Од економски асџекџиџ, најзначајно заболување е Мулџисисџтемскиот синдром на слабеење кај одбиени џрасиња (Postweaning multisystemic wasting syndrome - PMWS). Болесџиџа најчесџо се јавува кај џрасиња на возрастџи од 2 до 5 месеци со знаџи на џрогресивно слабеење, дијареа и џоремџување во дишењџето. Бидејќи вирусој има џосебен афинџиџетџи кон лимфноџиџо џкиво, џромениџе се каракџиџеризираат со намалување на лимфоџиџиџиџе во лимфоидниџе оргџани и со наод на гранулоџиџиџна инфилџтраџија (хисџиџиоџиџиџи и мулџинуклеарни клеџиџки - гџигџаниџиџиџиџи).

Денес, со сигурносџи се знае дека ова заболување е од мулџифакџиџорна џприрода, односно бројни инфекџиџивни и неинфекџиџивни факџиџори можџат да џослужат како активџивџиџори за џојава на болесџиџа кај ЦВС2-инфџиџиџираниџе свињи. Болесџиџа е расџросџиџранџета во целиој свеџи, а за џрвџиџиџи во Р. Македонија е дијагностџиџиџиџирана во 2007 гџодина.

Клучни зборови: цирковирус кај свињџиџе џиџи 2, мулџисисџтемски синдром на слабеење кај одбиени џрасиња

ВОВЕД

Цирковирусот кај свињџиџе - ЦВС (Porcine circovirus – PCV) првпат е опишан како вирусна компонента на РК15 клеточна култура во 1974 и се сметал како непатоген вирус за свињџиџе. Кога ЦВС бил докажан кај прасиња заболени со Мулџисистемскиот синдром на слабеење кај одбиени прасиња (Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome - PMWS), прашањата поврзани за патогенезата на вирусот продолжиле да се дискутираат и истражуваат (12, 41). Подоцна, било констатирано дека

· докажаниот цирковирус кај заболените
· прасиња имал различна генотипска структура
· од вирусот присутен во РК15 култура на
· клетки (28, 29). Вирусот кој според генотипот
· бил присутен кај заболените прасиња бил
· наречен Цирковирус кај свињџиџе тип 2 - ЦВС2
· (Porcine circovirus type 2 - PCV2), со цел да се
· разликува од цирковирусот присутен во РК15
· култура на клетки, кој бил наречен
· Цирковирус кај свињџиџе тип 1 - ЦВС1 (Porcine
· circovirus type 1 - PCV1) (26, 28). Во 1998 година
· биле направени неколку експериментални
· истражувања со цел да се предизвика PMWS

со примена на ЦВС2 како единствен причинител. Во најголем дел од обидите да се предизвика болеста изостанал потполниот спектар на промени кои се јавуваат на теренот под природни услови (2, 7, 21, 33)

Денес, ЦВС2 болеста се смета за ензоотска болест во свињарското производство и заболуваат свињи од скоро сите возрасти (9). Кофакторите, како што се стимулација на имунолошкиот систем, едновремена инфекција, како и генетската predisпозиција се главни теми на кои се темелат понатамошните истражувања за болеста (40). Исто така, денес не постојат дилеми околу поврзаноста на ЦВС2 и Мултисистемскиот синдром на слабење кај одбиени прасиња (PMWS), меѓутоа, сè уште се истражува дефинитивниот патогенетски модел кој го објаснува механизмот на кој ЦВС2 инфекцијата кулминира во PMWS.

Според најновите истражувања, ЦВС2 учествува во појавата и на други патолошки состојби кај свињите, кои се нарекуваат Цирковирусни болести кај свињите (Porcine circovirus diseases – PCVD) (40). Покрај PMWS, во Цирковирусни болести кај свињите се вбројуваат: Синдромот на дерматитис и нефропатија кај свињите (Porcine dermatitis and nephropathy syndrome – PDNS); т.н. Комплекс на респираторна болест кај свињите (Porcine respiratory disease complex – PRDC); Пролиферативна и некротизирачка пневмонија (Proliferative and necrotizing pneumonia – PNP); како и поедини репродуктивни заболувања, додека конгениталниот тремор тип АП денес не се смета за цирковирусно заболување (14, 38).

КАРАКТЕРИСТИКИ И ЗНАЧЕЊЕ НА БОЛЕСТА

Во 1995 година од страна на Меѓународниот комитет за таксономија на вирусите (International Committee for the Taxonomy of Viruses – ICTV) основана е фамилијата *Circoviridae*, во која спаѓа новооткриен мал, необвиткан, сферичен вирус, со геном составен од ссДНК, кој е инфективен за птици, рбетници и растенија.

ЦВС2 вирусот е инфективен за домашните и дивите свињи. Серолошките испитувања ја исклучуваат можноста за инфекција со овој вирус на говедата, овците, козите, коњите, кучињата, мачките, глупците и човекот (4, 3, 13, 40).

ЦВС2 инфекцијата е широко распространета во светот меѓу популацијата домашни свињи, независно од здравствениот статус на истите, како и нивната клиничка состојба (4, 40). Кај дивите свињи, серопреваленцијата на ЦВС2 обично е помала, се движи во граници од 33 до 48%, но податоци за постоење на болеста се сретнуваат во сите земји каде се спроведени истражувања (41). Заболениите свињи, но и асимптоматските свињи долго време го шират вирусот во околината, докажано е дека вирусот се излучува во текот на активната фаза од неговата репликацијата (9, 40).

Според условите кои се сретнуваат во комерцијалните свињарски фарми, најголем дел од заболениите свињи се на возраст од 2 до 5 месеци, што покажува дека најчест пренос на болеста помеѓу свињите е хоризонталниот начин. Хоризонталниот начин на пренесување на болеста е докажан и во експериментални услови, при контакт на приемливи свињи со свињи кои веќе биле заболени (1, 8).

Податоците за појавата на вертикален пренос на болеста во природни услови се многу различни, поедини автори говорат дека истиот во Европа многу ретко се случува, додека податоците од Кореа покажуваат дека околу 13% од абортусите и мртвородените прасиња припаѓаат на ЦВС2 инфекција.

Постојат разни методи за дијагностика на ЦВС2 и тоа од ткиво, крв, серум, мукозни екскрети, измет или урина. Испитувањата на ткива со примена на методите *in situ* хибридизацијата (*in situ* hybridisation - ISH) (11, 27, 29, 35, 37) и имунихистохемскиот метод (27, 29, 35) се најупотребувани методи за рутинска дијагностика на ЦВС2. Постојат и други методи за детекција на ЦВС2 геномот, вклучувајќи PCR (15, 16, 29, 30) и qPCR (24).

Специфичните ЦВС2 антитела можат да бидат детектирани и со примена на имунопероксидаза (Immunoperoxidase monolayer assay - IPMA), ELISA и со индиректна имунофлуоресценција (42).

МУЛТИСИСТЕМСКИ СИНДРОМ НА СЛАБЕЊЕ КАЈ ОДБИЕНИ ПРАСИЊА (POSTWEANING MULTISYSTEMIC WASTING SYNDROME - PMWS)

Како што беше претходно изнесено, досега се опишани повеќе форми на Цирковирусни болести кај свињите, но

најзначајно заболување од економски аспект е РМWS кое е распространето низ целиот свет (40). Денес со сигурност РМWS е дефиниран како мултифакторно заболување кое вклучува инфекција со ЦВС2 како и влијание на други инфективни и неинфективни фактори кои служат како активатори за развој на клиничките знаци.

Според најновите истражувања во областа на свињарството, констатирано е дека Цирковирусните болести кај свињите, особено РМWS имаат најголемо влијание врз свињарското производство. Проценето е дека Европската Унија годишно губи околу 600 милиони евра како последица од цирковирусните заболувања. Директните губитоци настануваат како последица на угинување на прасињата и товениците, како и од недоволниот напредок на прасињата и нивната неможност да ја достигнат кланичната тежина. Индиректните губитоци доаѓаат како резултат на зголемена употреба на антибиотици со цел да се контролираат секундарните бактериски инфекции, како и промените во менаџментот на фармата во правец на намалување на влијанието на РМWS.

Од РМWS заболуваат свињи од 7 до 20 неделна возраст, се јавува главно кај повозрасните прасиња и во раната фаза од тоовот, но заболувањето е опишано и кај свињи на возраст од 1 до 6 месеци (17). Само во еден случај опишано е заболување кај прасиња на возраст од 3 дена (18). РМWS е опишан скоро во сите типови свињарски фарми (фарми за тов, фарми за одледување на прасиња), како и во фарми кои имаат од 30 до 10 000 маторици (5, 40).

Морталитетот и морбидитетот се варијабилни и зависат од фармата, начинот на чување на животните, а се движи во граници од 4-30% односно 70-80% (39).

Најчестите клинички знаци на болеста се прогресивно слабеење, тешко дишење, зголемени површински ингвинални лимфни јазли, бледило, жолтица и дијареа. Исто така, може да се појават кашлица, треска, пореметување на централниот нервен систем и ненадејно угинување (17, 20, 32).

Во фармите со РМWS заболени свињи, почесто се јавуваат и други инфекции и болести во споредба со фармите кои се слободни од РМWS. Во овие болести спаѓаат аџејцкиевата болест (Pseudorabies), PRRS, парвовируса кај свињите, гласеровата болест,

стрептококниот менингитис, салмонелоза, колибацилоза, неспецифични диареи, hepatitis dietica како и бактериски пневмонии (6, 14).

При појавата на РМWS најголеми оштетувања настануваат кај имунолошкиот систем кај свињите. Како во природни, така и во експериментални услови настанува намалување на лимфоцитите во лимфоидното ткиво, промена на клеточната суппопулација во периферната крв и промени во експресијата на цитокините кај заболените свињи.

Патолошко-анатомските промени за РМWS не се специфични. Во потешки случаи кај свињите може да се јави бледило на кожата, кахексија и зголемени лимфни јазли (ингвинални, субмандибуларни, мезентеријални и медијастичални лимфни јазли) (17, 35). Исто така, опишани се промени како атрофија на лимфните јазли со појава на мултифокални до дифузни некротични подрачја, намалена или зголемена слезина со портокалово жолта боја и иктерус (20, 34).

Од нелимфоидните ткива најчести промени се среќаваат на белите дробови. Кај нив се забележува супакутна интерстицијална пневмонија со зголем број хистиоцити и наод на мултинуклеарни клетки (гигантоцити) во задебелениот интералвеоларен сид или во алвеолите. Среден до голем број РМWS заболени свињи покажуваат кранио-вентрална белодробна консолидација и улцерации на езофагогастричниот дел од желудникот со профузни крварења и атрофија на мастите (40). Во хронични случаи, може да се сретне фиброзен и облитеративен бронхиолитис (40, 35). Кај одредени животни се забележува намалување на бројот на лимфоцитите и хистиоцитна инфилтрација во БАЛТ (Bronchus-associated lymphoid tissue). Опишани се промени на црниот дроб, како и воспаление на цревата. Промените на црниот дроб се карактеризираат со лимфохистиоцитна воспалителна инфилтрација во порталната зона, поединечни некрози на хепатоцитите, оток и вакуолизација на цитоплазмата од хепатоцитите и кариомегалија. Поретко кај заболените свињи се сретнува хроничен интерстицијален нефритис во кој се забележува голем број ЦВС2 антиген (35). Останати микроскопски промени што се среќаваат кај РМWS заболените свињи се мала до средна лимфохистиоцитна

воспалителна инфилтрација на скоро сите ткива.

● Дијагноза на PMWS

Конечна дијагноза за PMWS се поставува врз основа на три критериуми. Во првиот критериум вклучени се соодветните клинички знаци (основен е слабеење), вториот, наод на карактеристични патохистолошки промени на лимфоидното ткиво, и третиот, наод на ЦВС2 (антиген и/или нукленска киселина) во микроскопските лезии. Најважно е да се напомене дека најголемо влијание врз поставувањето на конечната дијагноза за PMWS имаат средни до интензивни промени на лимфоидното ткиво, како и средно до изразено присуство на ЦВС2 во хистолошки променетото лимфоидно ткиво (39).

Развиени се разни лабораториски методи за дијагностика на PMWS. Како "златен стандард" се смета методот кој едновременно вклучува детекција на ЦВС2 со констатирање на ткивните промени. Поради тоа, *in situ* хибридизацијата (*in situ* hybridisation) и имунохистохемискиот метод се најчесто применувани методи (27, 35).

ЦВС2 може да се дијагностицира и со примена на PCR методот кај PMWS заболени и PMWS незаболени свињи, со примероци земени од нос, фецес, урина, плунка, очен исподок и тонзили (10, 16, 19, 22, 25, 40).

КОНТРОЛНИ МЕРКИ И ВАКЦИНАЦИЈА ПРОТИВ ЦВС2

Имајќи го во предвид податокот дека ЦВС2 е убиквитарно заболување, мерките кои можат да се преземат за контрола на болеста се минимални. Мултифакторната природа на ова заболување укажува дека ефективните контролни мерки треба да бидат фокусирани кон разбирање на кофакторите и активаторите вклучени во одредени фарми и контролата или отстранувањето на неспецифичните фактори. Најистражувани кофактори и активатори во однос на развојот

на болеста или заштитата од болеста се однесуваат на менаџментот (17), тековните вирусни инфекции (39), стимулацијата на имунолошкиот систем (4, 23), исхраната и генетиката (31).

До денес се опишани неколку вакцини против ЦВС2 кои се базирани на инактивиран ЦВС2 изолат, на т.н. химера вирус (генот од ЦВС2 капсидот клониран во геномот на непатогениот ЦВС тип 1), ДНК и субединични вакцини. Во сите случаи, вакцините ги намалуваат лезиите на лимфоидното ткиво, излучувањето на вирусот и должината на вiremијата.

Повеќе од половина милион маторици денес се вакцинираат во Европа и Канада, земји во кои е постигнато значително намалување на морталитетот по одбивањето на прасињата.

СОСТОЈБА СО ЦИРКОВИРУСНИТЕ БОЛЕСТИ КАЈ СВИЊИТЕ ВО Р. МАКЕДОНИЈА

Првите показатели за присуството на Цирковирусот кај свињите тип 2 во Р. Македонија врз основа на клиничките симптоми потекнуваат од поодамна, но официјално за првпат ЦВС2 е дијагностициран во 2007 година (36). Сè уште со сигурност не можеме да ја потврдиме точната епизоотиолошка состојба за оваа болест кај нас, но досега болеста е дијагностицирана само во поедини фарми и тоа во спорадични случаи.

Бидејќи низ фармите во Р. Македонија не е воспоставена посебна програма за заштита од ова заболување, на фармите им се препорачува внимателно следење на состојбата. Навременото откривање на болеста, како и преземањето соодветни превентивни мерки значително ќе ги намали економските загуби во фармата.

Во поглед на дијагностиката, Факултетот за ветеринарна медицина во Скопје истата ја спроведува со примена на имунохистохемискиот метод, како еден од најдобрите дијагностички методи за оваа болест.

PORCINE CIRCOVIRUS DISEASES (review article)

Ristoski Trpe¹, Cvetkovic Iskra², Segales Joaquim³

¹ Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

²Department of Microbiology and Immunology:, Faculty of Veterinary Medicine-Skopje

³ Department de Sanitat i Anatomia Patologica,

Centre de Recera en Sanitat Animal (CReSA), Barcelona

e-mail: tristoski@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Porcine circovirus type 2 belongs on the family Circoviridae. This virus family includes small, non-enveloped viruses, with a circular, single-standed DNA genome.

This virus causes mainly subclinical infections, but a number of diseases have been linked to it (porcine circovirus diseases, PCVD). The most economically important PCVD is postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), which mainly affects pigs of 2 to 5 months of age, with progressive wasting, diarrhea and respiratory disorders. Main PMWS lesions are found in lymphoid tissues, which are characterized by lymphocyte depletion with granulomatous (histiocytic and multinucleate giant cell) infiltration.

PMWS is considered as multifactorial disease, with a number of infectious and non-infectious factors able to act as disease triggering in PCV2 infected pigs. PCVDs are worldwide distributed, and PMWS was diagnosed in Macedonia in 2007.

Key words: porcine circovirus type 2, postweaning multisystemic wasting syndrome

ЛИТЕРАТУРА

1. Albina E, Truong C, Hutet E, Blanchard P, Cariolet R, L'Hospitalier R, Mahé D, Allée C, Morvan H, Amenna N, Le Dimna M, Madec F and Jestin A (2001): An experimental model for post - weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in growing piglets. *Journal of Comparative Pathology*; 125: 292 - 303.
2. Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, Foster JC, Ellis JA, Krakowka S, Meehan BM and Adair BM (1999): Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 1 - 11.
3. Allan GM and Ellis JA (2000): Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*; 12: 3 - 14.
4. Allan GM, McNeilly F, Ellis J, Krakowka S, Meehan B, McNair I, Walker I, and Kennedy S (2000): Experimental infestation of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Archives of Virology*; 145: 2421 - 2429.
5. Allan GM, McNeilly F, Kennedy S, Meehan B, Ellis J and Krakowka S (2000); Immunostimulation, PCV - 2 and PMWS. *Veterinary Record*; 147: 170 - 171
6. Allan GM, McNeilly F, Meehan BM, Ellis JA, Connor TJ, Mc Nair I, Krakowka S and Kennedy S (2000): A sequential study of experimental infestation of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus: Immunostaining of cryostat sections and virus isolation. *Journal of Veterinary Medicine*; 47: 81 - 94.
7. Balasch M, Segales J, Rosell C, Domingo M, Mankertz A, Urniza A and Plana - Duran J (1999): Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post weaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 139 - 148.
8. Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GPS and Hamel AL (2001): Postweaning multisystemic wasting

- syndrome induced after experimental inoculation of cesarean - derived, colostrum - deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*; 13: 185 - 194.
9. Calsaming M, Segales J, Quintana J, Rosell C and Domingo M (2002): Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 40: 1848 - 1850.
 10. Celer Jr V and Carasova P (2002) First evidence of porcine circovirus type 2 (PCV - 2) infection of pigs in the Czech Republic by semi-nested PCR. *Journal of Veterinary Medicine*; 49: 155 - 159.
 11. Choi C and Chae C (1999): In - situ hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 265 - 270.
 12. Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Tood D and Haines D (1998): Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Canadian Veterinary Journal*; 39: 44 - 51.
 13. Ellis J, Konoby C, West KH, Allan GM, Krakowka S, McNeilly F, Meehan B and Walker I (2001): Lack of antibodies to porcine circovirus type 2 virus in beef and dairy cattle and horses in western Canada. *Canadian Veterinary Journal*; 42: 461 - 464.
 14. Ellis J, Clark E, Haines D, West K, Krakowka S, Kennedy S and Allan GM (2003): Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology*; 98: 159 - 163.
 15. Fenaux M, Halbur PG, Gill M, Toth TE and Meng XJ (2000). Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV - 2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR - restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV - 1 and PCV - 2. *Journal of Clinical Microbiology*; 38: 2494 - 2503.
 16. Hamel AL, Lin LL, Sachvie C, Grudeski E and Nayar GP (2000): PCR detection and characterization of type - 2 porcine circovirus. *Canadian Journal of Veterinary Research*; 64: 44 - 52.
 17. Harding JCS and Clark EG (1997): Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health and Production*: 5: 201 - 203.
 18. Hirai T, Nunoya T, Ihara T, Kusanagi K and Shibuya K (2001): Dual infection with PCV - 2 and porcine epidemic diarrhoea virus in neonatal piglets. *Veterinary Record*; 148: 482 - 284.
 19. Kim J, Choi C, Han DU and Chae C (2001): Simultaneous detection of porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in pigs with PMWS by multiplex PCR. *Veterinary Record*; 149: 304 - 305.
 20. Kim J, Chung HK, Jung T, Cho WS, Choi C and Chae C (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: Prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. *Journal of Veterinary Medical Science*; 64: 57 - 62.
 21. Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, Ringler S, Rings DM and Allan G (2001): Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus - 2 (PCV). *Veterinary Pathology*; 38: 31 - 42.
 22. Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F and Allan G (2000): Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Veterinary Pathology*; 37: 254 - 263.
 23. Kyriakis SC, Saoulidis K, Lekkas S, Miliotis CC, Papoutsis PA and Kennedy S (2002): The effects of immuno - modulation on the clinical and pathological expression of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 126: 38 - 46.
 24. Liu Q, Wang L, Willson P and Babiuk LA (2000): Quantitative, competitive PCR analysis of porcine circovirus DNA in serum from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 38: 3474 - 3477.
 25. Magar R, Larochelle R, Thibault S and Lamontagne L (2000): Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaning pigs: a sequential study.

- Journal of Comparative Pathology; 123: 258 - 269.
26. Mankertz A, Mankertz J, Wolf K and Bunk HJ (1998): Identification of a protein essential for replication of porcine circovirus. *Journal of General Virology*; 79: 381 - 384.
27. McNeilly F, Kennedy S, Moffet D, Meehan B.M, Foster J.C, Clarke E.G, Ellis J.A, Haines D.M, Adair B.M, Allan G.M (1999): A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin - fixed tissues from pigs with post - weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Virological Methods* 80: 123 - 128.
28. Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM and Allan GM (1998): Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *Journal of General Virology*; 79: 2171 - 2179.
29. Morozov I, Sirinarumit T, Sorden SD, Halbur PG, Morgan MK, Yoon KJ and Pael PS (1998): Detection of a novel strain of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 36: 2535 - 2541.
30. Nayar GPS, Hamel A and Lin L (1997): Detection and characterization of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Canadian Veterinary Journal*; 38: 385 - 386.
31. Opriessnig T, Janke BH and Halbur PG (2006): Cardiovascular lesions in pigs naturally or experimentally infected with Porcine Circovirus Typa 2. *Journal of Comparative Pathology*, Volume 134, Issue 1, p. 105-110.
32. Quintana J, Segales J, Rosell C, Calsamiglia M, Rodríguez - Arrijo GM, Chianini F, Folch JM, Maldonado J, Canal M, Plana - Durán J and Domingo M (2001): Clinical and pathological observations of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Record*; 149: 357 - 361.
33. Rovira A, Balasch M, Segales J, Garcia L, Plana - Duran J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A and Domingo M (2002): Experimental inoculation of conventional pigs with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome and Porcine Circovirus 2. *Journal of Virology*; p. 3232-3239.
34. Rosell C, Segales J, Ramos - Vara JA, Folch JM, Rodríguez - Arrijo GM, Duran CO, Balascho M, Plana - Duran J and Domingo M (2000): Identification of porcine circovirus in tissue of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Veterinary Record*; 146: 40 - 43.
35. Rosell C, Segales J, Plana - Duran J, Balasch M, Rodríguez - Arrijo GM, Kennedy S, Allan GM, McNeilly F, Latimer K.S and Domingo M (1999): Pathological, Immunohistochemical and In - situ Hybridization Studies of Natural Cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Pigs. *J. Comp. Path.* 120, 59 - 78.
36. Ristoski T, Mrenoski S, Cvetkovic I (2007): First report of Circoviral infection in pigs in Republic of Macedonia. 25th ESVP Meeting, 29.August-1. September, Munich, Germany.
37. Segales J, Ramos-Vara JA, Duran CO, Porter A, Domingo M (1999): Diagnosing infectious disease using in situ hybridization. *Swine Health Prod.* 7 (3): 125 - 128.
38. Segales J (2002): Update on postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome diagnostic. *Journal of Swine Health and Production* 10 (6): 277 - 281.
39. Segales J and Domingo M (2002): Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Veterinary Quarterly*; 24(3); 109-124.
40. Segales J, Allan G.M, Domingo M (2005): Porcine Circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 6 (2): 119 - 142.
41. Tischer I, Miels W, Wolff D, Vagt M and Griem W (1986): Studies on the pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology*; 91: 271 - 276.
42. Wellenberg GJ, Pasch S, Bernadsen FW, Steverink PJGM, Hunneman W, Vorst TJK van der, Peperkamp NHMT, Ohlinger VF, Schippers R, Oirschot JT van and Jong MF de (2000): Isolation and characterization of porcine circovirus type 2 from pigs showing signs of post - weaning multisystemic wasting syndrome in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*; 22: 167 - 172.



КОМПАРАТИВНА ВАРИЈАБИЛНОСТ НА МИКРОСАТЕЛИТСКА DNA КАЈ ИЗВОРЕН И ИЗВОРНО СЕЛЕКТИРАН СОЈ НА ШАРПЛАНИНСКИОТ ОВЧАРСКИ ПЕС

Есмеров Игор¹, Панов Сашо², Стојковски Велимир¹, Славковска Адријана³

¹Каџедра за биохемија, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

²Каџедра за молекуларна биологија, Природно математички факултет - Скопје,

³Министерство за земјоделство, шумарство и водостопанство, Р. Македонија

e-mail: esmerov@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

DNA микросателитските претставуваа кодминантен генетски маркер кој наоѓа широка примена во карактеризирањето на биодиверзитетот на одредени популации.

Генетската варијабилност на популацијата на шарпланинците беше одредена преку анализа на 10 DNA микросателитски локуси (FH2361, DGN10, FH3287, FH3924, FH3608, FH3023, FH3489, FH3721, FH4027 и FH2141).

Во студијата беа вклучени 37 изворни примероци на шарпланинското овчарско куче (19 низински шарпланинци и 18 џланински).

Информативноста на DNA микросателитски локуси беше одредена според (Polymorphism Informative Content-PIC), како и според бројот на детектирани адели по локус. Сите десет DNA микросателитски локуси беа високо полиморфни.

Во геномот на шарпланинецот највисока вредност за PIC (Polymorphism Informative Content) беше детерминирана кај локус FH3023 (0.975), а најниска за локусот FH3924 (0.812).

Бројот на детектирани адели по локус кај шарпланинецот варираше од 16 кај локусот FH2361, па до 33 кај локусите FH3023 и FH3489.

Интрапопулационата генетска варијабилност беше утврдена преку бројот на детектирани адели за секој DNA микросателитски локус, просечниот број на адели за сите осум DNA микросателитски маркери и вкупниот број на детектирани адели, карактеристични за дадената популација.

Кај популациите на шарпланинци бројот на заеднички адели беше највисок во локусот FH2141 и изнесуваше 49, од кои 35 хетерозиготи и 14 хомозиготи.

Според добиените резултати од оваа студија може да се заклучи дека постои релативно ниска генетска варијабилност во однос на испитуваните параметри кај популација на шарпланинци. Ова сознание, согласно сличните студији на поголем број автори имплицира дека шарпланинецот е релативно чиста раса која при одгледувањето не е премногу вклучувана со други раси на кучиња, кои се фенотипски слични, со цел подобрување на некои карактеристики на расата.

Клучни зборови: куче, DNA микросателити, генетска варијабилност

ВОВЕД

Првите контакти помеѓу човекот и кучето датират уште од пред 15.000 години, времето на раниот неолит, од кој што период постојат

: значајни археолошки податоци во форма на скици, цртежи, скулптури. Имено, најраните артефакти потекнуваат уште од времето на палеолитот, но тие сознанија се ограничени само на одредени каниди, како волкот или

чакалот, но сеуште не упатуваат на постоењето на кучето. Сепак најрано откриените кучешки коски датираат од 6.600 година пред нашата ера, а се пронајдени на планината Јарно, сегашната граница помеѓу Ирак и Иран, додека пак првите различни краниални и мандибуларни облици на кучешки коски датираат од 5.400-4.600 година пред нашата ера, а се откриени во коритото на реката Данабуе, денешна Романија.(1)

Сите досегашни сознанија како од социолошко-културолошки, така и од научен аспект укажуваат дека корените на зближувањето помеѓу човекот и кучето треба да се бараат во постојаното менување на начинот на живот, преминувањето на човекот во интелегентно суштество, потребата од зголемување на моќта, менувањето на начинот на исхрана, потрагата по нови извори на храна и изнаоѓање на начини за полесно совладување на егзистенцијалните проблеми. Сублимирањето на овие состојби во кој се наоѓале предците на денешниот човек би можеле да се сведат на обична еволуција на две суштества кои иладници години живееле едно покрај друго, а зближувањето и доместикацијата станала неизбежна.

Повеќе од 150 раси се идентификувани само од American Kenel Club, кој ги класифицирал во седум групи, претежно врз база на способностите со кои се одликуваат, историскиот развој и морфологијата.

Кучињата имаат 38 пара на автозомни хромозоми и два полови, во споредба со човечките 23, а нивниот геном содржи околу 0.5 Gbp повеќе DNA отколку хуманиот (International Human Genome Sequencing Consortium). Разликата во основа може да се објасни со постоењето на некоку повторувачки сегменти во геномот, а некои се добиени со делеции на секвенците кои биле присутни кај предците на кучето, а одсуствувале кај човековите предци. Компарацијата на различните раси на кучиња покажуваат дека постои разлика од 1 SNP на 1000 базни пара, слично како и кај човечката популација(2)

Шарпланинецот претставува автохтона раса на овие простори, а негово изворно живеалиште претставуваат Шарпланинскиот предел, надморска височина од над 1000 метри, додека во зимскиот период се спушта во потоплите низински предели, како следбеник на големите овчи стада (слика 1). Негова основна употребна вредност пред сè

се однесува на обезбедувањето и заштитата на стадата овци од различните предатори, волци, рисови, лисици.



Слика 1. Шарпланински овчарски пес
(*Canis lupus domesticus*)

Според некои податоци шарпланинска раса потекнува од пред 1600-2000 години и се смета за најстара раса на овие простори. За прв пат расата е опичана во FCI (Federation Cynologique Internationale) во 1939 година под името Илирски овчарски пес. Во 1957 е регистриран и во Југословенскиот кинолошки сојуз под името Југословенски овчарски пес - "Шарпланинец". Според Меѓународната кинолошка федерација (FCI), две земји се сметаат како место на потекло на ова куче, Македонија и Србија. Предците на шарпланинецот сè се уште контраверзни, односно некои сметат дека тој потекнува од Тибетанскиот мастиф, некои римски раси на кучиња и некои раси кои потекнуваат од турските степи. Како нејверодостојна се смета теоријата дека потекнуваат од некои азиски борбени раси на кучиња(3)

Анализите на митохондријалната DNA (mtDNA) сугерираат дека доместификацијата асоцира на генетски блок во кој учествуваат само неколку предци во генетскиот пул. Како и да е, големиот генетски диверзитет меѓу кучињата дава можност на оваа хипотеза, како и за другите раси на животни (2). Ова имплицира дека доколку настане вкрстување на одредени домашни животни со нивните живи предци може да дојде до повторна појава на одредени особини кои биле присутни и пред доместификацијата. Но сепак со истражувањата на митохондријалната DNA може да се дојде само до одредени сознанија бидејќи таа се наследува само од мајката.(4)

Постојат два типа на SSLP (Simple sequence length polymorphisms-SSLPs), минисателити и микросателити:

- а) Минисателити, исто така познати како варијабилен број на тандемски повторувања (variable number of tandem repeats VNTRs), каде повторувачките единици достигнуваат до 25bp.
- б) Микросателити, или едноставни тандемски повторувања short tandem repeats-STRs се кратки секвенци на DNA, со големина од 1-6 bp кои се повторуваат повеќе пати едно по друго и се карактеризираат со висока информативност.

· OD260 x 50 фактор и разредување x 40 =µg DNA/ml.

· Прочистеноста на DNA беше одредувана преку односот и вредноста од спектрофотометрирањето на 260nm и 280nm. Доколку односот е 1.8 се смета дека изолираната DNA има добар квалитет.

· Интактноста на добиената DNA е одредувана со електрофореза на 1% агарозен гел во 1xTBE раствор (90mM Tris, 90mM Борна киселина, 8mM EDTA, pH=8.3).

· DNA микросателитските локуси беа амплифицирани со користење на полимераза верижна реакција (PCR-Polymerasis chain reaction) (5).

· За амплификација на микросателитските локуси е користен Perkin-Elmer GeneAmp PCR System 2400.

· Смеса за амплифицирање на автозомните микросателитски локуси беше правен во епендорфи од 200µl.

· За амплификација на микросателитските локуси е користен следниов програм за PCR: почетна денатурација на 94 C°/ 10 минути, денатурација на 94 C°/ 1 минута, анилирање на прајмерите на 56 C/ 1 минута, екстензија на 72 C°/ 1 минута, крајна екстензија на 72 C°/ 8 минути.

· PCR реакцијата содржеше:

· -H ₂ O	14.0µl
· -10xRb puffer	2.5µl
· -2.5mmol MgCL2	1.5µl
· -2.5mmol dNTP	1.0µl
· -0.5U Ampli Taq Gold	0.3µl
· -2.0 p.mol primer R/F	1.0µl
· -DNA	4µl
· -финалниот волумен на реакцијата	23.3µl

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

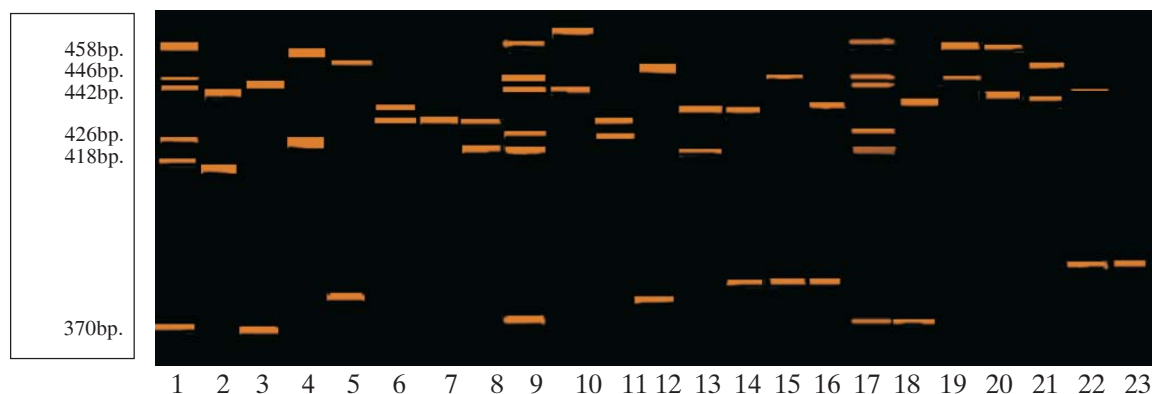
Во студијата беа вклучени вкупно 37 шарпланинци и тоа 18 претставници на Низинскиот тип на шарпланинци и 19 претставници на Планинскиот тип шарпланинци.

Изолација на DNA од леукоцитните клетки со протеиназа К.

Изолацијата на DNA беше направена со фенол/хлороформ екстракција и преципитација со етил алкохол.

Концентрацијата на изолираната DNA беше одредена спектофотометриски на 260nm бранова должина. Во 980µl дејонизирана H₂O беа додадени 20µl на растворена DNA. По хомогенизацијата на примерокот, истиот беше спектрофотометриран на 260nm бранова должина на која молекулата на DNA покажува оптичка активност. Остатокот на протеини како резултат на недоволното прочистување на DNA, во текот на изолацијата, беше одреден со спектрофотометрирање на 280nm бранова должина.

Вкупната количина на изолираната DNA беше одредена според следнава формула :



Слика 2. Денатурирачка полиакриламидна гел електрофореза од PCR амплификации на локусот FH3287

Големините на секвенците се отчитаа на нативна DNA електрофореза во полиакриламиден гел (DNA-PAGE).

Добиените параметри за алелната големина и генотипот за секоја индивидуа беа статистички обработени со програмот CERVUS (6), односно детерминирани алелната фреквенца, просечниот број на алели по locus, алелната големина и вредноста на Polymorphism Informativ Content (PIC) (7).

Големина на алелите на locusот 3287, генотипизирани со (DNA-PAGE). Од лево кон десно: Marker; SD1=418/442bp.; SD2=370/446bp.; SD3=426/454bp.; SD4=378/450bp.; SD5=430/434bp.; SD6=430bp.; SD7=422/430bp.; Marker; SD8=442/462bp.; SD9=426/430bp.; SD10=378/450bp.; SD11=418/434bp.; SD12=382/434bp.; SD13=382/446bp.; SD14=382/434bp.; Marker; SD15=370/434bp.; SD16=446/458bp.; SD17=434/458bp.; SD18=434/444bp.; SD19=386/434bp. (слика 2)

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Според резултатите од моите истражувања не произлегуваат сознанија за специфични алели кои се детектираат кај шарпланинците, а не се присутни кај останатите четири раси на кучиња.

Диференцијацијата на геномите на шарпланинецот, Collie, Boykin Spaniel, German Shepherd и Shetland Sheepdog може да се согледа и преку различната дистрибуција на карактеристичните или сопствени алели во геномот на шесте популации. При тоа за различните DNA микросателитски региони се детерминираат различен број на сопствени алели.

Сепак, (8) наведуваат дека доколку алелната фреквенца на уникатните приватни алели е помала од 0.1%, постои можност тие алели да се присутни во неколку популации, па доколку се скринираат поголем број на индивидуи, би се отфрлило тврдењето дека специфичните или приватни алели се карактеристични само за одредена популација.

Истражувањата се одвиваа со цел да се утврдат генетските варијации помеѓу популацијата на изворниот шарпланинец и изворно селектираниот шарпланинец со што би се дошло до одредени сознанија за степенот на хетерозиготност и алелната фреквенца.

Бројот на алелите кој DNA микросателитскиот locus ги поседува, ја покажува неговата полиморфност, односно неговата информативност. Според ФАО критериумите, DNA микросателитските loci кои се употребуваат во ваков тип на студии треба да поседуваат најмалку 4 алели.

Од добиените резултати може да се забележи дека разликите помеѓу изворниот и изворно селектираниот сој на шарпланинецот се занемарливи, односно се сведуваат на неколку карактеристични алели за соодветната популација, кои можеби биле пронајдени и кај изворно селектираниот сој, доколку би се испитувал поголем број на индивидуи, пред се од областа на Косово и Метохија, каде што според сознанијата се уште постојат неколку линии на изворни шарпланинци. Забележителни се одредени фенотипски разлики, кои пред се се однесуваат на помасивното тело на изворно селектираниот сој на шарпланинците, должината на влакната и големината на краниумот, што асоцира на внесување на екстериерни особини од фенотипски сличните раси, како на пример Руска стража, Турски Карабаш и Бернандинец. Сепак, овие тврдења треба дополнително да се испитаат, бидејќи во оваа студија не беа внесени наведените раси на кучиња. Малите разлики во алелната фреквенца, обсервираната и очекуваната хетерозиготност не наведуваат на размислувања кои одат во правец на мали интервенции во изворните линии на шарпланинецот, со цел да се подобрат екстериерните особини на расата, поради барањата на пазарот. Сепак интервенцијата со внесување на линии од други раси во изворниот тип на шарпланинецот, како и менувањето на животната средина во подолг временски период, би резултирало со губење на одредени фенотипски карактеристики, карактеристични за изворните шарпланински кучиња.

Кај примероците SD127/1, SD128/2, SD96/3, SD114/4, SD126/5, SD20/6, SD109/7 (воени кучиња), за забележува мал број на карактеристични алели на сите loci, што асоцира на можноста да примероците потекнуваат од две линии, односно да се парени во блиско крвно сродство, што би резултирало со мал број на позитивни мутации и губење на одредени карактеристики кај овие примероци.

Во студијата беше внесен и еден редок примерок на изворен бел шарпланинец. Бројот на карактеристичните алели во геномот на овие шарпланинци може да се смета за реален, бидејќи не биле предмет на облагодорување со други раси. Сепак, големината на популацијата може да се јави како фактор кој би го условил и со тоа би го ограничил бројот на алелите кои се карактеристични за белите изворни шарпланинци. Одредени алели беа детектирани само кај белиот изворен шарпланинец, што укажува на тоа дека се работи за карактеристични алели за популацијата. При тоа се добиени определени сознанија за постоење на карактеристични алели за одредени индивиди во популацијата на изворните бели шарпланинци во два локуса (DGN 10 и FH3023, примерок SD9 со големина на алели од 370/402 и 338/350). Овие примероци внатре во изворната популација на шарпланинци се многу ретки, па упатно би било доколку се најдат во иднина вакви примероци да се подложат на испитувања на истите локуси, како би добиле посигнификантни резултати.

Диференцијацијата на геномите кај изворниот и изворно селектираниот шарпланинец се согледува и преку различната дистрибуција на карактеристичните алели во геномот на двете популации. При тоа за различни DNA микросателитски маркери се детерминирани различен број на карактеристични алели.

PIС (Polymorphic Informtion Content) е важен показател за полиморфизмот на микросателитската DNA, кој ја опушува информативноста на генетските маркери во популациските студии. Големината на PIС го индицира степенот на полиморфизмот. Под висока полиморфност се подразбира кога големината на $PIС > 0.5$, нормална полиморфност кога $PIС < 0.5$ и ниска полиморфност кога $PIС < 0.25$. Според горенаведените добиени резултати можеме да кажеме дека сите десет маркери кај изворниот и изворно селектираниот тип на шарпланинецот се високо полиморфни, а нивната полиморфност се движи од 0.829-0.965.

Хетерозиготноста, мерка за генетскиот диверзитет ја рефлектира генетската варијанса на популацијата, при што во оваа студија не се забележува сигнификантна генетска диференцијација помеѓу популацијата на изворниот и изворно селектираниот шарпланинец.

Информациите кои се добиени од оваа студија, а кои се базираат пред се на големините на добиените алели, обсервираната и очекуваната хетерозиготност, вредностите на полиморфизмот на десетте маркери, како и карактеристичните алели за популацијата ни укажуваат дека не постојат одредени карактеристични алели по што на молекуларно ниво би се издвоил изворниот од изворно селектираниот тип на шарпланинецот.

Обсервираната хетерозиготност кај други 28 раси на кучиња, истражувани со 100 микросателитски маркери е различна од веќе детектираната кај Шарпланинското куче и изнесува кај Pembroke Welsh corgi 0.630, Belgian tervuren 0.650, Border collie 0.669, Australian shepherd 0.696 (овчарски раси), Borzoi 0.605, Norwegian elkhound 0.623, Rhodesian ridgeback 0.647, Greyhound 0.648 (ловни раси), Bulldog 0.581, Keeshond 0.650, Chow chow 0.666, American Eskimo dog 0.686 (неспортски раси), Weimaraner 0.614, Kabrador retriever 0.657, Golden Retriever 0.657, Brittany spaniel 0.666 (спортски раси), Bull terrier 0.387, Miniature bull terrier 0.474, Airedale terrier 0.515, Jack Russel terrier 0.758 (териери), Pug 0.566, Yorkshire terrier 0.684, Papillon 0.698, Pomeranian 0.750, Boxer 0.474, Doberman pincher 0.527, Bernese mountain dog 0.543, Akita 0.642 (работни раси). Популацијата која била истражувана броела 28-45 единки. Вкупната хетерозиготност на расите изнесува 0.618, односно се движела во границите 0.387-0.758 (9).

Во истражувањето на други 11 раси на Источно Азиски кучиња Sapsaree, Jindo, HAD, Kishy, Hokkaido, Akita, Shiba, Shih Tzu, Sakhalin, Eskimo, Taiwan и Average, обсервираната хетерозиготност изнесувала 0.310-0.718, со средна вредност од 0.580 (10).

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Добиените вредности, како и вредности за секој поединечно за паремтарот PIС како и за бројот на детектирани алели во геномот на анализираните популации укажуваат дека DNA микросателитските локуси кои беа применети во оваа студија ги задоволуваат критериумите кои треба да ги исполнуваат микросателитските маркери при употреба во популациски студии при детекција на алелната фреквенца и генетскиот диверзитет. DNA

-
- микросателитските локуси кои беа одбрани за истражување на Шарпланинската раса се високоинформативни, што се потврдува преку бројот на детектирани алели по локус и вредностите на Polymorphic information content (PIC) по локус.
2. Големината на популацијата како и бројот на испитувани DNA микросателитски маркери го условува бројот на алели кои се карактеристични за геномите на анализираните популации. Сепак, споредбата на алелите помеѓу планинскиот и низинскиот шарпланинец со останатите четири раси на кучиња укажуваат на специфични алели во девет од десетте испитувани локуси.
 3. Врз база на вредностите за генетската дистанца, генетскиот идентитет, алелната фреквенца, очекуваната и обсервираната хетерозиготност, како и PIC-от на сите испитувани локуси можеме да дојдеме до заклучок дека степенот на дивергентност на шарпланинецот може да биде квантифициран со анализа на DNA ниво, преку користење на прајмери кои се употребени во истражувањето на други раси. Сепак неминовна е потребата од воведување на матична евиденција со строго специфични високо информативни DNA региони, со што би се спровела матична евиденција на изворните претставници на расата, но и истовремено би се спречило размножувањето во блиско крвно сродство, како и размножувањето со раси со сличен генотип.
 4. Степенот на обсервираната и очекуваната хетерозиготност се приближно слични кај низинскиот и планинскиот шарпланинец.
 5. Според добиените резултати од оваа студија може да се заклучи дека постои релативно ниска генетска варијабилност во однос на испитуваните параметри кај популација на шарпланинци. Ова сознание, согласно сличните студии на поголем број автори имплицира дека шарпланинецот е релативно чиста раса која при одгледувањето не е премногу вкрстувана со други раси на кучиња, кои се фенотипски слични, со цел подобрување на некои карактеристики на расата.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MICROSATELLITE DNA IN WELL SARHPLANINIAN SHEPHERD AND WELL SELECTED SARHPLANINIAN SHEPHERD

Esmerov Igor¹, Panov Sasho², Stojkovski Velimir¹, Slavkovska Adrijana³

¹Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

²Department of Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences - Skopje

³Ministry of Agriculture, forestry and water economy, R.Macedonia

e-mail: esmerov@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

DNA Microsatellites are codominant genetic markers and they are widely used in the characterization of biodiversity.

Genetic variability of sarplaninian shepherds populations was determinate on the basis of analyses of ten DNA microsatellites loci (FH2361, DGN10, FH3287, FH3924, FH3608, FH3023, FH3489, FH3721, FH4027 and FH2141).

In this study we have included 37 representative individuals from sarplaninian shepherd (19 lowland sarplaninians and 18 mountain sarplaninians).

Informativnes of DNA microsatellites loci was determinate with parameter (Polymorphism Informative Content-PIC), and according to the determinate number of alleles for each locus. All ten DNA microsatellite loci were highly polymorphic.

In the genome of sarplaninian shepherd loci FH2141 showed highest PIC value (0.975), and the loci with lowest PIC value was FH3924 locus (0.812).

Number of detected alleles for each locus in the genome of sarplaninian shepherd varies from 16 (FH2361) to 33 (FH3023 and FH3489).

Intrapopulation genetic variability was determinate according to the number alleles for each locus separately in each population, mean number of alleles for all eight loci and with number of the characteristic alleles.

The most common alleles in populations of sarplaninian shepherds were detected in FH2141 loci, 49 (35 heterozygous and 14 homozygous).

Taking in consideration the research results from this study a conclusion can be drawn that the genetic variability in Sarplaninian shepherd population is very low. This conclusion and similar stand points in the studies from a significant number of other authors, implicates that the Sarplaninian shepherd is relatively pure breed rarely interbred with phenotypic similar dogs in order to improve the characteristics of the breed.

Kew words: dog, , DNA microsatellite, genetic variability.

ЛИТЕРАТУРА

- Wayne R.K., 1993. Molecular evolution of the dog family. Trends Genetics, 9, 218-224.
- Lindblad K. T., Wade M. K., Mikkelsen T. S., 2005, Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. Nature, 438/8, 803-819.
- Dimitrievic V., Jovanovic S, Savic M, Trailovic R., 2005. Genetic polymorphism of blood proteins in yugoslav shepherd dog. Acta Veterinaria (Beograd), 55, 5-6, 357-365.
- Gotherstrom A., 2005. Cattle domestication in the NearEast was followed by hybridization with auroch bulls in Europe. Proceedings of the Ryal Society, 272, 2337-2344.
- Mullis Kary B., 1993. Polymerase chain reaction (PCR) method. The Nobel Prize in Chemistry.
- Marshall T.C, 1988. Cervus 1.0 Edinburgh, University of Edinburgh press.
- Irion D. N., Schaffer A. L., Famula T. R., Eggleston M. L., Hughes S. S., and Pedersen N. C., 2003. Analysis of Genetic Variation in 28 Dog Breed Populations With 100 Microsatellite Markers J Hered 94: 81-87

-
8. Botstein D., White R., Skolnick M., Davis R. W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32, 314-331.
9. Griagaliunaite I., Tapio M., Viinalass H., Grislis Z., Kantanen J., Miceikiane I., 2003. Microsatellite variation in the baltic sheep breeds. *Veterinarija*, 21, 43-44.
10. Kim K. S., Tanabe Y., Park C. K., and Ha J. H. Genetic Variability in East Asian Dogs Using Microsatellite Loci Analysis, 2001. *The Journal of Heredity* 92:398-403

НУТРИТИВНИ ЕФЕКТИ НА АНТИДИЈАБЕТИЧНА ДИЕТА ВРЗ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ НА ТКИВНИТЕ АНТИОКСИДАНТИ КАЈ СТАОРЦИ СО ИНДУЦИРАН DIABETES MELLITUS

Чрчева-Николовска Радмила, Секуловски Павле, Проданов Ристо

Институт за храна, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: rnikolovska@fvm.ukim.edu.mk;

АБСТРАКТ

За сити здрави животиински организми карактеристично е одржувањето на рамнотежата меѓу појавата на силно реактивни слободни радикали и нивната разградба од страна на антиоксидантите. Како последица на нарушување на оваа хомеостаза се јавуваат бројни болести. Со цел да се заобиколи или да се намали деструктивниот ефект на оксидативниот стрес врз биолошките системи, како терапија се користат исхраната. Оксидативниот стрес во овој момент се препорачува дека е одговорен за патогенезата на шеќерната болест. Постојат многу заклучоци кои укажуваат на промени во параметриите на оксидативниот стрес кај diabetes mellitus. Улогата на диеталната исхрана при тоа е да обезбеди правилен баланс на сити хранливи материји додека пак специјалните диети се важни за болните животиини. Комплексните јагле хидрати и диеталните влакна помагаат во забавувањето на аيسорцијата на глукозата од интестиналниот тракт и минимизирање на флукуациите во нејзиното ниво по оброкој. Растворливите влакна во храната исто така можат да го продолжат времето на задржување во гастроинтестиналниот тракт, да овозможат поголема аисорција на водата, и да попомогнат во создавање на кратко синџирести масни киселини кој ја хранат интестиналната мукоза.

Клучни зборови: диетална храна, оксидативен стрес, црн дроб, хипергликемија, дијабетични стаорци, diabetes mellitus.

ВОВЕД

Шеќерната болест (лат. diabetes mellitus) е хронично пореметување на метаболизмот на јагле хидратите како резултат на релативен или апсолутен недостаток на инсулин, кој се лачи во β - клетките на Langerhans-овите островца на панкреасот. Болеста може да се појави под дејство на еден или повеќе фактори, генетска предиспонираност, панкреатитис, неурогени фактори како што се стрес, зголемена телесна тежина, хиперфункција на предниот дел на хипофизата или кората на надбубрежната жлезда и било кој фактор кој предизвикува

• дегенерација на Langerhans-овите островца.
• Основно пореметување во случај на шеќерна болест е недостаток на инсулин што доведува до намалување на способноста на организмот во искористување на глукозата. Карактеристични знаци на шеќерната болест се: хипергликемија, излачување на глукоза во урината (glukosuria), зголемена количина на излачена урина (polyuria), зголемена жед (polydipsia), зголемено излачување на азот во урината, зголемена концентрација на слободни масни киселини во плазмата, масна дегенерација на црниот дроб, кетонемија, кетонурија, ацидоза, губиток на телесната тежина и дијабетична кома (1).

Шеќерната болест е честа ендокринопатија кај животните, се јавува кај кучиња и мачиња. Кај кучињата, хроничниот панкреатит и имуната деструкција на клетките на панкреасот се најзначајни причини за појава на шеќерна болест. Кај женските кучиња, двапати повеќе се појавува за разлика од кај машките. Постојат податоци за појава на шеќерна болест кај крави, коњи, свињи и овци (2) и често кај кучиња и мачки. Кај некој видови на птици исто така може да се појави хипергликемија (1,2).

Во основата на развитокот на шеќерната болест лежи оксидативниот стрес како и на нејзините компликации (3,4). Во прилог на ова се податоците добиени од страна на повеќе автори кои регистрирале намалување на концентрацијата на каталитичката активност на ензимите ткивен глутатион (GPx) и супероксид димутаза (SOD). Досегашните резултати од бројните испитувања поврзани со оксидативниот стрес, како и антиоксидативната заштита, особено кај шеќерната болест, сеуште се недоволни и донекаде контраверзни, за завземање на став во однос на определена терапија.

Експерименталниот *diabetes mellitus* не се појавува кај сите видови животни, ниту пак има ист степен на тежина. Кај месојадите експерименталниот *diabetes mellitus* е тежок и завршува смртно, ако не се контролира со апликација на инсулин, додека пак преживарите се поотпорни, покажуваат благи симптоми и можат без примена на инсулин да преживеат подолго време.

Прогнозата кај шеќерната болест зависи од рано дијагностицирање и адекватна терапија. Најголемиот број облици на шеќерна болест можат да се третираат со инсулин. Покрај инсулинската администрација диетарното регулирање игра важна улога во целосниот режим. (5)

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Wistar стаорци од машки пол беа користени како анимален модел, поделени во пет групи:

- контролна група С,
- група со диетална храна,
- стаорци со индуциран *diabetes mellitus*,

стаорци со индуциран *diabetes mellitus* и диетална храна и

стаорци со индуциран *diabetes mellitus* и инсулин.

Предизвикување на *diabetes mellitus*

Експерименталниот *diabetes mellitus* кај стаорците беше предизвикан со еднократно аплицирање i.p. на Streptozotocin (Sigma Aldrich Chemie, GmbH, Deutschland). Streptozotocin-от пред апликацијата го растваравме во цитратен пуфер 50 mM (pH 4.0) Пред апликацијата животните беа оставани 12 часа да гладуваат. Контролните животни добиваа еднаков волумен на цитратен пуфер.

Исхрана на експерименталните животни

Експерименталните животни се хранеа со сува храна тип *Purina Veterinars Diets Colitis Canine Formula DCo* произведена од NESTLE. Оваа храна ја добиваа животните од групата кај која имаше индуциран *diabetes mellitus* и една контролна група за да се забележи ефектот на храната. Нивото на глукоза во крвта кај групата со индуциран *diabetes mellitus* беше регулирано единствено со употреба на храната. За да се забележи разликата кај една од групите, кај која беше индуциран *diabetes mellitus* беше давана комерцијална храна за стаорци и инсулин за регулирање на нивото на глукозата.

Табела 1. Хемиски состав на сувата храна DCO формула

Влага 12%
Сурови протеини 23%
Сурови масти 12%
Пепел 7%
Сурови влакна 10%
Калциум 1.1%
Фосфор 0.95%
Скроб 31.3%
Шеќери 2.1%
М.Е. 3.42 kcal/g
Витамин А 23000 IU/kg
Витамин D3 1500 IU/kg
Витамин Е (alpha tocopherol) 220mg/kg

Според произведувачот DCO Diabetes COLitis е формула која обезбедува комплетна и избалансирана исхрана за кучиња. Високото ниво на сложени јаглехидрати, зголемена количина диететски хранливи влакна и умереното ниво на калории ги задоволуваат зголемените специфични потреби кај кучиња кој боледуваат од *diabetes mellitus* и colitis.

Диететската храна за регулација на глюкозата доставува со понудата високо ниво на комплексни јаглехидрати и зголемено ниво на растворливи и нерастворливи влакна за да се минимизира променливоста на нивото на глюкоза во крвта.

Високото ниво на комплексните јагленихидрати ги редуцира флукутациите на нивото на глюкоза по оброкот.

Зголеменото ниво на диетални хранливи влакна го скратува времето на интестиналниот транзит, за да ја помогне слабата ресорпција на глюкозата и со тоа ја контролира хипергликемијата. Кај кучиња со *diabetes mellitus*, влакната можат да ја помогнат спората апсорпција од интестиналниот тракт и да го редуцираат појадењето флукутирањето и хипергликемијата на глюкозата во крвта. Влакната исто така ја подобруваат и нормализираат подвижноста на колонот.

Високо ниво на растворливи влакна го продолжува интестиналниот транзит, за поголема апсорпција на водата, и помага во продукцијата на кратко синџирести масни киселини кои ја исхрануваат интестиналната мукоза.

Зголемено ниво на омега-3-масни киселини помагаат во справувањето со воспалителниот процес, многу се важни кај некој форми на *diabetes mellitus*, потеклото е од рибиното масло.

Умерено ниво на диететски масти, калории и протеини ја задржуваат телесната кондиција.

Зголемено присуство на витамини овозможува намалување на диабетичните компликации т.е. зголемено ниво на витамин Е и *niacin* помага во метаболизмот на глюкозата и мастите.

Анализи за ткивни антиоксиданти

● Активност на супероксид дигутиаза

Активноста на SOD во хепар беше определувана со сет за определување на SOD според методот на Winterbourn et al. (1975). Единицата за активноста на SOD е дефинирана како сума од ензимската активност која предизвикува 50% редуција на бојата, за време на реакцијата со супероксидниот анјон. Активноста на SOD во хепар се изразува во единици за SOD на mg протеин.

● Активност на глутатион редуктаза

Активноста на црнодробната глутатион редуктаза (GSSG-Red) беше определувана со сет за GSSG-Red по метод на Dolfen et al. (1989), а резултатите беа изразени во nm на NADPH оксидиран до NADP во минута на mg протеин.

● Содржина на ткивен глутатион (GSH)

Содржината на црнодробниот глутатион беше мерена со сет за вкупен глутатион според методот на Akerboom et al. (1981).

Биохемиски методи за анализа на параметри во ткиво

● Определување на количество на оксидирани протеини (AOPP)

Спектрофотометриски метод според Witko-Sarsat et al. (1996). Количеството на AOPP се изразува во nmol chloramin T на mg протеин.

● Определување на карбонилни соединенија по методот на Levine

За определување на содржината на карбонилните соединенија беше користен методот на Levine (1990) со мали модификации.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

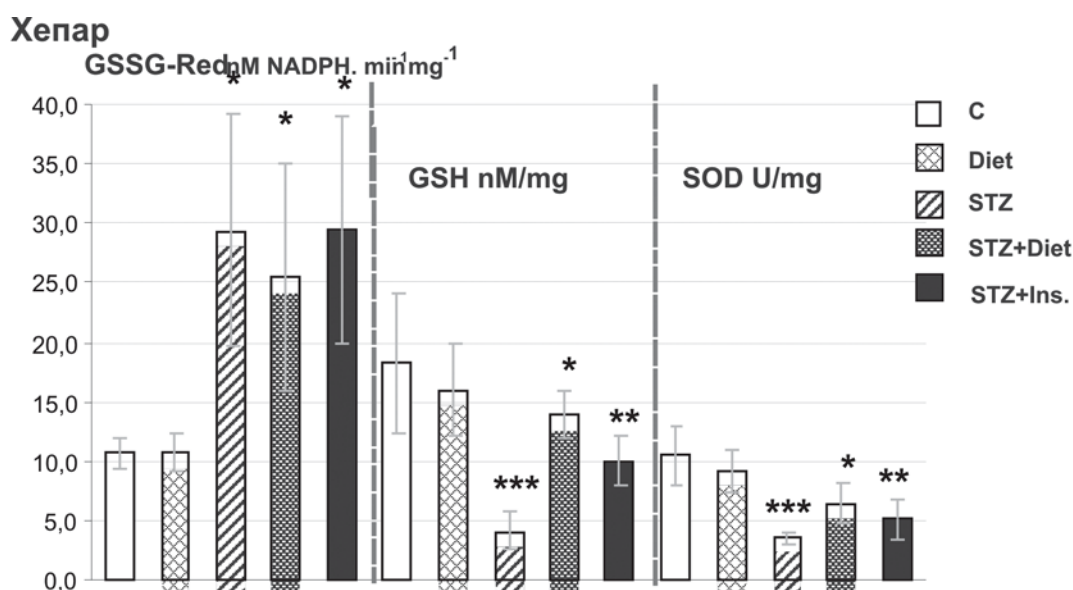
Сигнификантно намалување во активноста на SOD и вкупниот глутатион (GSH), беше забележана во црниот дроб на диабетичните животни споредени со контролните. Зголемувањето во концентрацијата на глюкозата го потиснува природните антиоксиданти како SOD и GSH. Забележаното намалување во активноста на SOD може да е резултат на инактивацијата на H₂O₂ или

гликолизација на ензимите, која се забележува при појава на diabetes mellitus. Можен извор за оксидативен стрес кај шеќерната болест ја вклучува промената на редокс балансот резултат на променетиот метаболизам на јагле хидрати и мастите, зголемувањето во создавањето на слободните кислородни групи, и намалувањето на нивото на антиоксидантите како GSH и SOD.

Од прикажаните вредности за добиените резултати за активноста на ткивните ензими (SOD, TGSН и GSSG Red) во улога на антиоксидативна заштита од контролната група животни и групата под диетален третман се забележува дека на крајот од експериментот концентрацијата на SOD кај

животните под диетален третман не е променета што не е случај кај групите кој се третирани со STZ, кај кои покажува високо сигнификантна разлика ($p < 0.001$) во однос на онаа кај контролната група животни. Исто таква високо сигнификантна разлика ($p < 0.001$), покажува концентрацијата на вкупниот глутатион кај животните под експериментален третман кој е намален во однос на контролната група животни. Вредностите на глутатион редуказата кај животните под експериментален третман се зголемени во однос на истите кај контролната група и покажуваат високо сигнификантна разлика ($p < 0.001$).

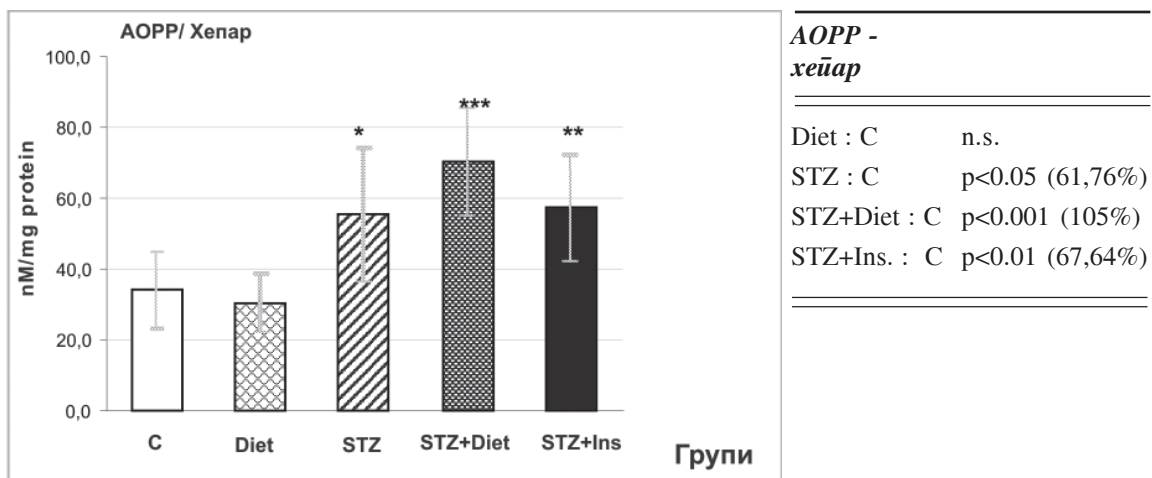
Графикон 1. Количество на ензими кои учествуваат во антиоксидативната заштита (SOD, TGSН, GSSG-Red) (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)



Табела 2. Ензими кои учествуваат во антиоксидативната заштита

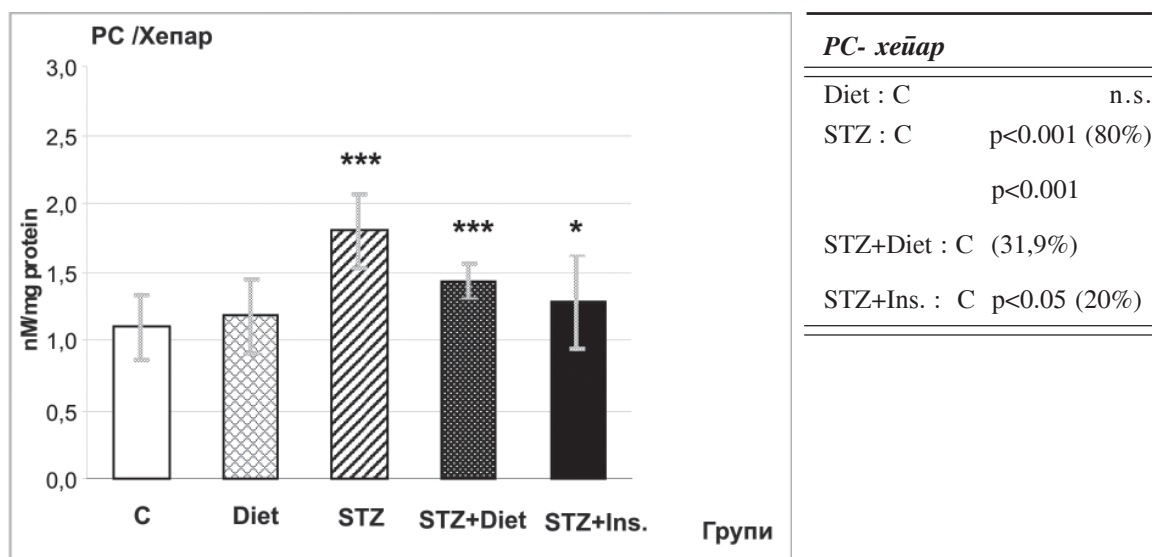
Хепар	GSSG-red (nM NADPH.min ⁻¹ mg ⁻¹)	SOD (U/mg)	GSH (nM/mg)
Diet.:C	n.s.	n.s.	n.s.
STZ:C	$p < 0.05$ (177%)	$p < 0.001$ (-65.67%)	$p < 0.001$ (-77.21%)
STZ+Diet.:C	$p < 0.05$ (139%)	$p < 0,05$ (-38.17%)	$p < 0.05$ (-23,76%)
STZ+Ins.:C	$p < 0.05$ (177%)	$p < 0,01$ (-51,48%)	$p < 0.01$ (-45,34%)

Графикон 2. Сигнификантни промени во концентрацијата на оксидативно модифицираните протеински молекули во компарација со контролната група животни (C) (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001)



Добиените резултати за АОРР продукцијата во хепар кај стаорците од групата STZ+Diet. покажаа сигнификантно зголемување (p<0.001,105%) во однос на добиените резултати од контролната група. Сигнификантни резултати покажаа и стаорците од групите STZ+Ins., (67.64%) и STZ (67.76%), кај кој имаме p<0.01 и p<0.05 соодветно. Гореприкажаните вредности за концентрацијата на АОРР треба да се помножат со 10nM/mg за да се добијат вистинските концентрации.

Графикон 3. Сигнификантни промени во вредностите за продукција на карбонилни соединенија во компарација со контролната група животни (C) (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001)



Добиените вредности за продукција на карбонилни соединенија во групите под експериментален третман покажаа високо сигнификантна разлика во однос на вредностите добиени од контролната група (STZ,STZ+Diet:C,p<0.001) или 80% кај STZ и 31.9% кај STZ+Diet.. Умерено сигнификантна разлика во однос на контролната група даде групата STZ+Ins.(20%). Кај животните кој беа под третман со диеталната храна нема забележителна разлика во однос на контролната група животни.

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените резултати за влијанието на диеталната исхрана (Purina Veterinars Diets Colitis Canine Formula DCo), кај стаорци со индуциран diabetes mellitus, следејќи ги маркерите на оксидативен стрес, во нашето истражување може да се изведат следните заклучоци.

1. Секојдневната клиничка опсервација, за време на третманот со STZ и диеталната храна забележани се карактеристични знаци на diabetes mellitus, како накострешено крзно, зголемено уринарање, губење на телесната тежина и катаракта.
2. Диеталниот третман кај гликемичните животните, покажа висока зависност на телесната тежина со времетраењето на експериментот; (животните третирани со STZ ја намалија својата тежина за разлика од нормогликемичните животни).
3. За време траење на експериментот се забележува прогресивно, значајно зголемување во концентрацијата на глукозата, кај сите групи освен контролна и групата со диетална храна кое е најизразено во последната недела.
4. Диеталниот третман кај животните, предизвика пораст во вредностите на клучните маркери на оксидативниот инсулт: 1. вредноста на оксидираните соединенија и 2. карбонилните соединенија.
5. Диеталниот третман кај гликемичните животни предизвика намалена анти-оксидативна заштита отчитана преку намалената каталитичка активност на SOD и вкупниот глутатион, напоредно со зголемувањето на GSSG-Red која учествува во регенерацијата на глутатионот.
6. Постои тесна врска помеѓу хипергликемија, оксидативен стрес и диабетични компликации што е потврдено со овој труд.

NUTRITIONAL EFFECTS OF ANTIDIABETIC DIETS ON CONCENTRATION OF TISSUE ANTIOXIDANT ON RATS WITH INDUCED DIABETES MELLITUS

Crceva - Nikolovska Radmila, Sekulovski Pavle, Prodanov Risto

Food Institute, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

e-mail: rnikolovska@fym.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Oxidative stress is currently suggested to play as a pathogenesis in the development of diabetes mellitus. There are many reports indicating the changes in parameters of oxidative stress in diabetes mellitus. The role of dietary management in diabetes mellitus is to provide a proper balance of total nutrients while meeting the special dietary needs of the patient. Complex carbohydrates and dietary fiber help to delay the absorption of glucose from the intestinal tract and minimize postprandial fluctuation of glucose. The present study was designed to evaluate the effect of special antidiabetic diet treatment upon oxidative stress parameters in the initial stages of the development of diabetes. The findings of the present study suggest that special diet formula useful for prevention of progressive hyperglycaemia in aged provoked diabetes in dogs could not restore the imbalance of cellular defence mechanism provoked by streptozotocin. Soluble fiber in the diet may also prolong gastrointestinal transit time, allow greater water absorption, and promote the production of short chain fatty acids which nourish the intestinal mucosa.

Key words: diet food, oxidative stress, liver, hyperglycemia, diabetic rats, diabetes mellitus.

ЛИТЕРАТУРА

1. J.Procos. Annette Schubert and B.J. Briel, Changes in the levels of plasma electrolytes and glucose in severe artificially induced acidoses in merino sheep
2. Kaneko & Rhode, Diabetes mellitus in cow
3. Halliwell, B.and Gutteridge, J.M.C. (1999): Free radicals in biology and medicine. Oxford Science Publications, Oxford.
4. Halliwell B. And Gutteridge (1985), The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases, Mol. Aspects Med., 8
5. Djuksova fiziologija domacih zivotinja, (1975) Melvin J. Swenson
6. Akbar-zadeh A., Norou-zian D., -Mehrabi M.R., Jamshidi S., Farhangi A., Allah Verdi, Mofidian
7. Baynes, J.W. (1991): Role of oxidative stress in the development of complications in diabetes. Diabetes. 40:405-412.
8. Oberley, L.W.,(1988): Free radicals and diabetes. Free Radical Biol Med., 5:113-124.
9. Rand, J.S., Fleeman, L.K., Farrow, H.A., Appleton, D.J. Lederer, R. (2004): Canine and Feline Diabetes mellitus: Nature or Nurture? Amer.Soc. for Nutrion. Scien. 2072S-2080S.
10. Rand, J.S., Fleeman, L.K., Farrow, H.A., Appleton, D.J. Lederer, R. (2004): Canine and Feline Diabetes mellitus: Nature or Nurture? Amer.Soc. for Nutrion. Scien. 2072S-2080S



АВТОГЕНА ВАКЦИНАЦИЈА ЗА КОНТРОЛА НА ЈЕРСИНИОЗАТА (YERSINIOSIS SALMONIS) ВО САЛМОНИДНАТА АКВАКУЛТУРА ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Цветковиќ Александар¹, Христовски Мишо¹, Стојановски Стојмир²,
Мреношки Славчо³, Цветковиќ Искра³

¹Каџедрa за биологија и пaтoлoгија на риби, пчели и дивеч,
Факултeт за ветеринарна медицина - Скопје,

²Хидробиолошки завод, Р. Македонија,

³Каџедрa за микробиологија и имунологија,
Факултeт за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: acvetkovic@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Целта на истражувањето беше да се произведе автогена вакцина од изолати на *Yersinia ruckeri* и да се тестира нејзината ефикасност во теренски услови.

Колонии на *Yersinia ruckeri* биотип I изолирани од калифорниска пастрмка со знаци на хеморагична септикемија беа култивирани во TSB и инактивирани со формалин. Подготвената вакцина беше разредена и аплицирана со имерзија на подмладок од калифорниска пастрмка со просечна маса од 4,5 g во вакциналната суспензија. Дваесет и осум дена по вакцинацијата беше спроведена веештачка инфекција со имерзија на рибите во инфективна суспензија од истиот изолат. Смртноста на контролните риби беше 87%, а на вакцинираните 11%. Добиените релативни проценти на преживување од 87,4% укажува на висок степен на специфична отпорност кај вакцинираните единки.

Клучни зборови: *Yersinia ruckeri*, калифорниска пастрмка, вакцинација, веештачка инфекција

ВОВЕД

Јерсиниозата (болест на црвени усни, црвена болест на црвена уста) е една од најважните болести кај фармски одгледувани и диви салмонидни видови риби насекаде во светот. Претставува бактериско, акутно до хронично заболување кое се манифестира со хиперемии и хеморагии на главата (12). Прво известување за појава на болеста во 1955 год. дал Rucker (25) и во негова чест од страна на Ewing и сор. (10), причинителот е наречен *Yersinia ruckeri*. Болеста е раширена во целиот свет каде има интензивно одгледување на салмонидни видови риби, а во Република Македонија прва изолација и идентификација е направена од страна на Markis и сор. (18) во 1999 год. кај помладите категории

· калифорниска пастрмка во полносистемски
· пастрмски рибник во околината на Кичево.
· Присуството на јерсиниозата во
· пастрмските рибници може успешно да се
· држи под контрола со примена на
· хемотерапевтици. Како резултат на нивната
· интензивна примена се јавува се поголема
· резистенција на причинителот, значително се
· поскапува производството и се јавуваат
· недозволени остатоци во месото на
· конзумните риби. Од тие причини, најдобар
· начин за превентива на болеста е добрата
· одгледувачка пракса и вакцинацијата на
· рибите во рибниците каде болеста е
· ендемична или постои ризик од нејзина појава
· (2, 9, 12, 20).
· Јерсиниозата е една од првите болести кај
· рибите за која е пронајдена ефикасна

профилактика со вакцинација и прва болест за која е произведена комерцијална вакцина (21, 22, 29). Прва успешна експериментална вакцинација е извршена во 70-те години од минатиот век, а за методот за подготовка на вакцината известуваат Ross и Klontz (24). Croy и Amend (8) први успешно примениле вакцинација против вибриозата со формалински препарат и метод на краткотрајно потопување. Истата постапка е усвоена и во имунопрофилактиката на јерсиниозата (9). Денес постојат голем број производители на комерцијални вакцини против јерсиниозата кај салмонидите. Најголем дел од нив се базирани на формалинска инактивација на бујонска култура од причинителот и апликација на вакцината со краткотрајно потопување на рибите во разредена вакцинална суспензија (2, 20, 27). И покрај постоењето на комерцијални вакцини, новите истражувања укажуваат на постоење на нови групи на причинителот против кои истите не покажуваат ефект. Од тие причини, најдобро е вакцинацијата против јерсиниозата да се изведува со вакцина добиена со инактивација на добиениот изолат (2, 3).

Во Република Македонија јерсиниозата е присутна само на еден рибник и нанесува значителни економски штети на производството. За да се држи под контрола, во рибникот се користат исклучиво антибиотици кои покажуваат варијабилан успех (12, 18).

Целта на трудот беше, за прв пат во Република Македонија, да се произведе вакцина добиена од наш изолат на *Yersinia ruckeri* и да се тестира нејзината ефикасност во теренски услови.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

● Подготовка на вакцината

За подготовка на вакцината беа користени колонии на *Yersinia ruckeri* биотип I изолирани од калифорниска пастрмка со знаци на хеморагична септикемија. Од изолатот на *Yersinia ruckeri* беше пресадена свежа култура на триптозен соја агар (TSA, Oxoid) и инкубирана на 25°C за време од 48 часа. Сите израснати колонии беа суспендирани во 500 ml триптозен соја бујон (TSB, Fluka) и инкубирани на 25°C за време од 48 часа. По истекот на инкубацијата, бактериските клетки во бујонот беа инактивирани со додавање 1.5 ml (0,3% (v/v)) формалин и дополнителна инкубација од 48 часа на 25°C.

Стерилноста на добиениот препарат беше проверена со инокулација на 1 ml од

инактивираниот бујон на крвен и триптозен соја агар инкубирани на 25°C за време од 72 часа.

● Вид на риба и услови на чување

Експериментот беше спроведен со подмладок на калифорниска пастрмка (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) со просечна маса од 4,5 g набавен од рибник во кој не беше утврдено присуство на *Y.ruckeri*.

Рибата беше чувана во базен на комерцијален пастрмски рибник преграден со мрежа на два дела со волумен од по 1,5 m³. И во двата дела од базенот беа насадени по 120 единки (вкупно 240). Рибите во горниот преграден дел ја претставуваа вакциналната група, а рибите во долниот дел, контролната.

Условите на чување беа - проток на вода 5 l/s, температура на вода 15,5°C и концентрација на кислород 8,7 mg/l. Исхраната беше со комерцијална екструдирани храна за пастрмки, согласно упатството на производителот.



Слика 1. Подготвени базени за населување



Слика 2. Населување на подмладокот

● **Вакцинација на рибите**

Вакцинацијата беше спроведена 21 ден по населувањето на подмладокот. Поради појавата на неспецифична смртност како резултат на манипулативниот стрес и едноставна калкулација на резултатите, по 20 единки и од двете групи беа отстранети од експериментот.

Подготвената вакцина во количество од 200 ml, во посебен пластичен сад беше разредена со 1800 ml вода од рибникот (1:10). Во вака подготвената суспензија, рибите од вакциналната група беа потопувани за време од 30 sec. Вкупно беа вакцинирани 100 единки. Рибите од контролната група (n=100) беа потопувани само во вода од рибникот.

Со цел спречување на послабиот имунолошки одговор поради стресот предизвикан од манипулацијата при вакцинацијата, рибите и во двете групи не беа хранети еден ден пред експериментот.



Слика 4. Вакцинација на подмладокот

● **Тестирање на ефикасноста на вакцината**

Вештачката инфекција беше спроведена 28 дена по вакцинацијата. Експерименталната инфективна доза ($\sim 1-2 \times 10^8$ CFU/ml = 0,5 McFarland standard) беше подготвена од 48 часовна култура на *Y. ruckeri* одгледана во триптозен соја бујон на температура од 25°C. Подготвената култура беше разредена со вода од рибникот во однос 1:20 (1 l култура + 19 l вода). И вакцинираната и контролната група риби беа потопувани во времетраење од 60 min. во разредената култура на *Y. ruckeri* со постојана аерација. По инфекцијата, рибите беа набљудувани за време од 21 ден.

Во тој период, сите угинати риби и рибите со изразени клинички симптоми на јерсиниоза беа отстранувани од рибникот и тестирани на присуство на *Y. ruckeri*.

Ефикасноста на вакцината беше утврдена со пресметување на релативниот процент на преживување (РПП) на рибите по вештачката инфекција според следнава формула:

$$\text{РПП \%} = (1 - \text{А} / \text{Б}) \times 100$$

каде е

А- процент на угинати риби од вакциналната група

Б- процент на угинати риби од контролната група



Слика 3. Разредување на вакциналната суспензија



Слика 5. Вештачка инфекција на подмладокот

РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од тестирањето на ефикасноста на вакцината се прикажани во табелите 1 и 2.

Табела 1. Резултати од вештачка инфекција кај вакциналната група

Вкупен број единки	Број угинати единки	Морталитет (%)
100	11	11

Табела 2. Резултати од вештачка инфекција кај контролната група

Вкупен број единки	Број угинати единки	Морталитет (%)
100	87	87

Со замена на добиените вредности во формулата за одредување на релативниот процент на преживување се добива:

$$\text{РПП} = (1 - 11 / 87) \times 100 = 87,4 \%$$

Од податоците во табелите 1 и 2, следува дека процентот на преживување на рибите во вакциналната група изнесува 89%, а во контролната група 13%.

ДИСКУСИЈА

Резултатите од експериментот реализиран со цел тестирање на автогена вакцина како метод за сузбивање на јерсиниозата ги потврдуваат наодите на Rodgers (23) за оправданоста на вакцинацијата во рибниците каде болеста се јавува. Одредени искуства во производството на вакцина против јерсиниозата (24) се стекнати и пред причинителот да го најде своето место во систематиката на бактериите причинители на болести кај рибите (10), по кое следат опсежни истражувања за можностите на примена на разни техники на подготовка на вакцината и тестирање на нејзината ефикасност (1, 6, 7, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 22).

Во постапката на подготовка на вакциналниот препарат, за инактивација на бактериските клетки користевме само формалин согласно препораките на Austin и сор. (3) и Johnson и сор. (14). Amend и сор. (1) во подготовката на препаратот користеле бутанол-екстрахиран LPS антиген од бактериите и заклучиле дека имерзионата

·
· вакцинација со овој екстракт е исто ефикасна
· како и инактивацијата со формалин. Наведените автори укажуваат дека препаратите подготвени на ваков начин се безбедни за употреба и даваат одлични резултати кај риби потешки од 1 g.
· Резултатите од вештачката инфекција одговараат на резултатите на Johnson и сор. (15), Johnson и Amend (16), Newman и Majnarich (19) и Raida и Buschman (22). Овие автори во истражувањето на можностите за вакцинација на салмонидните риби против јерсиниоза примениле и други методи на примена (i/p, туширање и спреј) во зависност од категоријата и телесната маса на рибите. Тие утврдиле дека вакцинацијата со потопување дава најдобри резултати кај рибите со тежина 4 - 6 g. Вештачката инфекција со имерзија на рибите го имитира природниот начин на заразување и треба секогаш да се применува при тестирање на ефикасноста на вакцината. Оваа експозициона техника најверојатно ги активира имуните механизми на површината на телото и кореспондира на мукозниот одговор (22). Применетиот метод за вакцинација и

вештачка инфекција на рибите со имерзија е оправдан со оглед на телесната тежина на рибите во експериментот, едноставноста на изведувањето и природниот начин на влегување на антигенот во организмот. Стекнатите искуства на други автори и високиот процент на заштитени риби во ова истражување укажуваат дека и покрај постоењето комерцијални вакцини за контрола на јерсиниозата, најдобро е вакцинацијата да се спроведува во рибник каде се појавува заболувањето со изолат добиен од истиот рибник. Austin и сор. (3) во истражувањата спроведени во Велика Британија утврдиле присуство на т.н. нова биогрупа на *Yersinia ruckeri* против која комерцијалните вакцини не покажале задоволителен ефект. За успешна имунопрофилактика, наведените автори произвеле автогена вакцина од репрезентативен изолат и постигнале релативен процент на преживување на вакцинираните риби поголем за 29% во однос

на комерцијалната вакцина.

Утврденото преживување на рибите во контролната група во која морталитетот изнесуваше 87%, потврди дека дозата за вештачка инфекција е правилно одредена (8, 15, 28) и овозможи да го пресметаме релативниот процент на преживување на рибите како единствено мерило за тестирање на вакцината. Добиената вредност за РПП од 87,4% значително ја надминува долната граница од 60% препорачана од Johnson и сор. (15), односно 70% како што наведува Ward (28) и укажува на висок степен на стекната специфична отпорност кај вакцинираните единки.

Споредено со другите методи на вакцинација на рибите, имерзијата т.е. потопувањето на рибите во вакцинална суспензија е метод на избор поради едноставната употреба и минималниот стрес кај вакцинираните единки.

AUTOGENOUS VACCINATION FOR CONTROL OF YERSINIOSIS (YERSINIOSIS SALMONIS) IN THE SALMONID AQUACULTURE IN REPUBLIC OF MACEDONIA

Cvetkovik Aleksandar¹, Hristovski Miso¹, Stojanovski Stojmir²,
Mrenoski Slavco³, Cvetkovik Iskra³

¹*Department for biology and pathology of fish, honey bees and wildlife,*

Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

²*Hydrobiological Institute, Republic of Macedonia*

³*Department for Microbiology and Immunology,*

Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

e-mail: acvetkovic@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

The aim of this study was to produce an autogenous vaccine from *Yersinia ruckeri* isolate and to test it's efficacy in field conditions.

Colonies of *Yersinia ruckeri* biotype I isolated from rainbow trout with haemorrhagic septicemia were cultivated in TSB and inactivated with formalin. The vaccine was diluted and administered by immersion of rainbow trout fry (~ 4.5 g BW) in the vicinal suspension. The experimental infection was done 28 days post vaccination by immersing the fry in infectious suspension of the same isolate. Mortality of the control and vaccinated fish was 87% and 11%, respectively. Vaccinated fish showed high level of gained specific resistance to the infection (RPS 87,4%).

Key words: *yersinia ruckeri*, rainbow trout, vaccination, experimental infection

ЛИТЕРАТУРА

- Amend D.F., Johnson K.A., Croy T.R. and McCarthy D.H. (1983) Some factors affecting the potency of *Yersinia ruckeri* bacterin. *Journal of Fish Diseases* 6, 337-344.
- Austin, B. and Austin, D. (2007) *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*, 4th ed. Praxis Publishing, Chichester UK, pp. 594.
- Austin D.A., Robertson P.A.W. and Austin B. (2003) Recovery of a new biogroup of *Yersinia ruckeri* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Systematic and Applied Microbiology* 26, 127-131.
- Bullock G.L. and Anderson D.P. (1984) Immunisation against *Yersinia ruckeri*, cause of enteric redmouth disease. In: de Klinkelin, P (ed.) *Symposium on Fish Vaccination*. OIE, Paris, pp. 151-166.
- Cagirgan H. and Tanrikul T. (1998) Testing the effectiveness of a *Yersinia* vaccine in infected and chemically treated juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Ichthyology* 14, 239-243.
- Cipriano R. and Ruppenthal T. (1987) Immunisation of salmonids against *Yersinia ruckeri*: significance of humoral immunity and cross protection between serotypes. *Journal of Wildlife Diseases* 23, 545-550.
- Cossarini-Dunier M. (1986) Protection against enteric redmouth disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after vaccination with *Yersinia ruckeri* bacterin. *Journal of Fish Diseases* 9, 27-33.
- Croy T.R. and Amend D.F. (1977) Immunization of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) against vibriosis using the hyperosmotic infiltration technique. *Aquaculture* 12, 317-325.
- Ellis E.A. (1988) *Fish Vaccination*. Academic Press Limited, London NW1 7DX. pp. 259.
- Ewing E.W., Ross A.J., Brenner D.J. and Fanning G.R. (1978) *Yersinia ruckeri* sp.nov., the redmouth (RM) bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology* 28, 37-44.

11. Furones D.M., Rodgers J.C. and Munn B.C. (1993) *Yersinia ruckeri*, the causal agent of enteric redmouth disease (ERM) in fish. *Annual Rev. of Fish Diseases*, 105-125.
12. Христовски М. и Стојановски С. (2005) *Биологија, Одгледување и Болести на Рибите*. Национален форум за заштита на животните на Македонија, Скопје, стр. 370.
13. Jeremic S. and Andjelic D. (2000) Immersive vaccination of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*-Walbaum) with *Yersinia ruckeri* bacterin. *Acta Veterinaria* (Beograd) 50, 2-3, 77-82.
14. Johnson K.A., Flynn J.K. and Amend D.F. (1982a) Duration of immunity in salmonids vaccinated by direct immersion with *Yersinia ruckeri* and *Vibrio anguillarum* bacterins. *Journal of Fish Diseases* 5, 207-213.
15. Johnson K.A., Flynn J.K. and Amend D.F. (1982b) Onset of immunity in salmonid fry vaccinated by direct immersion in *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins. *Journal of Fish Diseases* 5, 197-205.
16. Johnson K.A. and Amend D.F. (1983a) Comparison of efficacy of several delivery methods using *Yersinia ruckeri* bacterin on rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 6, 331-336.
17. Johnson K.A. and Amend D.F. (1983b) Efficacy of *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins applied by oral and anal intubation of salmonids. *Journal of Fish Diseases* 6, 473-476.
18. Markic Z., Hristovski M., Pejkoski C., Mrenoski S. and Davceva O. (1999) First isolation and identification of *Yersinia ruckeri* in Republic of Macedonia. Book of Abstracts, *Microbiologica Balcanica '99*, Plovdiv, Bulgaria.
19. Newmann S.G. and Majnarich J.J. (1982) Direct immersion vaccination of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), with a *Yersinia ruckeri* bacterin. *Journal of Fish Diseases* 5, 339-341.
20. Noga E.J. (2000) *Fish Disease Diagnosis and Treatment*. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa 50014.
21. Plumb J.J. (1999) *Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 50014, pp. 342.
22. Raida M.K. and Buchmann K. (2008) Bath vaccination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*: Effects of temperature on protection and gene expression. *Vaccine* 26 (8), 1050-1062.
23. Rodgers C.J. (1991) The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases* 14, 291-301.
24. Ross A.J. and Klontz G.W. (1965) Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against an etiologic agent of "Redmouth Disease". *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 22, 713-719.
25. Rucker A.J. (1966) Redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bulletin del'Office International des Epizooties* 65, 825-830.
26. Tebbit G.L., Erikson J.D. and Vandewater R.B. (1981) Development and use of *Yersinia ruckeri* vaccines to control enteric redmouth disease. In: International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Fish Vaccines, Leetown, West Virginia. *Developments in Biological Standardisation* 49, pp. 395-401.
27. Tobback E., Decostere A., Hermans K., Haesebrouck F. and Chiers K. (2007) *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. *Journal of Fish Diseases* 30, 257-268.
28. Ward P.D. (1982) The development of bacterial vaccines for fish. 47-58. in *Microbial diseases of fish*. ed. R.J. Roberts, Academic Press, London.
29. Woo P.T.K. and Bruno D.W. (1999) *Fish Diseases and Disorders Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI Publishing, Oxon OX10 8DE, UK, pp. 874.



ФАКТОРИ ЗА ПОЈАВА НА ВИСОК БРОЈ БАКТЕРИИ ВО СУРОВОТО КРАВЈО МЛЕКО

Ангеловски Љупчо, Секуловски Павле, Јанкулоски Деан,
Раткова Марија, Костова Сандра, Проданов Мирко

Институт за храна, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: ljangelovski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Овој труд имаше за цел во прв план да ја утврди моменталната состојба во Р.Македонија со бројот на бактерии во суровото кравјо млеко кои се еден од елементите кои го дефинираат квалитетот на истото, а во втор план да ги опише неколкуте фактори кои доведуваат до зголемување на бројот на бактерии во суровото кравјо млеко.

За потребите на ова истражување беа анализирани 3470 примероци на сурово кравјо млеко за вкупен број на бактерии, земени од лактофризери на општините јункови во неколку региони на Р. Македонија во периодот од јануари до март 2009.

По направените анализи утврдено е дека параметрите дадени во националната легислатива ги исполнуваат 56.20% од примероците. По направената споредба со Европската регулатива се покажа дека само 18.0% од примероците ги исполнуваат критериумите дадени во истата.

Резултатите укажуваат на недоволна хигиена при чувањето и искористувањето на млечните крави, неправилно исполнување со млеко во молзењето, а сето тоа е резултат на недоволните познавања на фармерите за хигиената во примарното производство на млеко.

Клучни зборови: TVC, кравјо млеко, квалитет на млеко

ВОВЕД

Во Правилникот за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи "Сл. весник на РМ" бр.157/2007 (19) и Директивата на ЕУ 92/46 (Council directive 92/46/EEC laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products, 20) се поставени основните критериуми според кои се проценува безбедноста на суровото кравјо млеко. Единствената разлика во наведените два документи е преодниот период од четири години кој е вклучен во нашата регулатива.

Овој период опишан во Прилог 3 предвидува постепено намалување на бројот на микроорганизмите и бројот на соматските клетки во суровото млеко. За 2009 година легислативата дозволува максималниот број микроорганизми во суровото кравјо млеко биде до 600.000 cfu/ml. Лабораторијата за испитување на квалитетот на сурово млеко при Факултетот за ветеринарна медицина во Скопје во 2008 година изготви прелиминарна студија за состојбата со бројот на бактерии и соматски клетки во суровото кравјо млеко (16). Тогашните испитувања утврдија дека во поглед на бројот на бактерии во суровото кравјо млеко 41.55% од земените примероци ги исполнуваа условите дадени во домаш-

ната легислатива, додека 10.7% од примероците одговараа на критериумите на Европската легислатива.

Фактори кои влијаат на вкупниот број бактерии во суровото кравје млеко

Млекото се синтетизира во специјализирани клетки за таа намена во млечната жлезда и во моментот на секреција од алвеолите во вимето млекото е стерилно (17). По оваа фаза на продукција на млекото контаминацијата со микроорганизми може да се јави од три главни извори (3) и тоа: од самото виме, од надворешноста на вимето и при ракувањето со млекото и од опремата за чување на млекото. Здравствената состојба и хигиената на животното, околината во која се чува и молзе и процедурите кои се користат за чистење и санитација на опремата за молзење и чување на млекото се клучни фактори при контаминацијата со микроорганизми на суровото млеко. Подеднакво важни на споменатите се исто така и температурата и времето на чување кои би дозволиле микроорганизмите да се размножуваат и да го зголемат својот број. Сите овие фактори влијаат на вкупниот број и типот на микроорганизми во збирното сурово млеко.

● **Контаминација со микроорганизми од вимето:** Суровото млеко при молзењето кај здрави крави нормално содржи низок број на микроорганизми и генерално содржи помалку од 1000 бактерии во ml (10). За разлика од здравото виме кое допринесува во мал степен или незначително кон бројот на микроорганизми во млекото, кравите со маститис имаат потенцијал да излучуваат огромен број на микроорганизми во збирното сурово млеко. Ова влијание на маститисот врз вкупниот број микроорганизми во збирното млеко зависи од сојот на патогените микроорганизми, фазата на инфекцијата и процентот на заболени крави во стадото. Инфицираните грла имаат потенцијал да излучуваат и преку 10^7 бактерии во ml (3).

● Од микроорганизмите предизвикувачи на маститиси утврдено е дека најголемо влијание на вкупниот број имаат бактериите како *Streptococcus* spp., а како најбитни од нив се *S. agalactiae* и *S. uberis*. Мора да се напомене и дека *Staphylococcus*

aureus не се смета за еден од повлијателните фактори иако се утврдени и до 60.000 бактерии во ml при инфекција со овој микроорганизам (7). Самата детекција на патогените микроорганизми во млекото не секогаш укажува дека потекнуваат од животни со маститис. Овие потенцијални предизвикувачи на маститиси можат да се јават во млекото од други извори како на пр. нечисти животни, слаба хигиена на опремата или пак лошо изведено ладење на млекото. Зголемувањето на бројот на соматски клетки во млекото може да послужи како доказ дека бактеријата која предизвикува маститис може да предизвикува и зголемен број бактерии во млекото. Ова се чини поверодостојно за *Streptococcus* spp. отколку за *Staph. aureus*, кој се излучува во млекото во помал број (4). Сепак *S. agalactiae* и *Staph. aureus* не се развиваат значајно на опремата за молзење и затоа нивното присуство во збирното млеко се смета за силен доказ дека тие потекнуваат од инфицирани животни (3, 7).

Предизвикувачите на енвироменталните маститиси (вклучувајќи ги тука колиформните бактерии, стрептококите и одредени коагулаза-негативни стафилококи) се природно поврзани со околината во која животните престојуваат и може да влијаат на бројот на бактерии во збирното млеко (1, 18).

● **Контаминација со микроорганизми од надворешноста на вимето:** Надворешноста на вимето и боските можат да бидат населени со микроорганизми кои природно се поврзани со кожата на животното или со околината во која животното се чува и молзе. Директното влијание на овие природни инхобитанти се смета за мал фактор во контаминацијата на збирното млеко и поради причината што овие микроорганизми не се размножуваат значајно во млекото. Од поголемо значење се оние микроорганизми кои растат и се размножуваат на вимето загадено со кал, фецес, храна или постелка.

Вимето и боските на кравите неизбежно се загадуваат додека тие лежат во шталите или кога се чуваат во калливи испусти. Искористената постелка содржи огромен број на микроорганизми. Вкупниот број на бактерии најчесто преминува и преку 10^8 - $10^{10}/g$. (1, 3, 8, 18). Микроорганизмите кои

потекнуваат од постелката и го конта-
минираат вимето се најчесто: стрептококи,
стафилококи, колиформни, спорогени
бактерии и други Грам-негативни
микроорганизми. На вимето може редовно
да се пронајдат и термофилни (бактерии кои
ја преживуваат пастеризацијата) и
психрофилни соеви на бактерии (бактерии
кои растат на ниски температури)
наведувајќи дека контаминацијата од
надворешноста на вимето може да има
огромно влијание врз вкупниот број на
бактерии (3).

● *Влијанието на одржувањето на
опремата и процедурите за санитација:*
Степенот на хигиената на системот за
молзење влијае на вкупниот број бактерии
најмногу од сите други наведени фактори
(13). Остатоците од млеко на контактните
површини на опремата го подржуваат
растот на огромен број на микроорганизми.
Овие површини се идеални за развојот на
микроорганизми кои потекнуваат од
околината (од постелката, храната,
ѓубрето). Неправилните процедури за
чистење и санитација можат да влијаат на
степенот на бактериски развој на површи-
ните на системот за молзење. Ова се одвива
или со заостанување на млеко во системот
во кое понатака се развиваат микроорга-
низми или со воспоставување на услови при
кои се развиваат само одредени групи на
микроорганизми. Порезистентни-те и/или
термофилните бактерии можат да
преживеат во помал број на површините на
опремата за кои се сметало дека се добро
исчистени со топла вода. Ако при ова
заостане помала количина на млеко тогаш
се јавува раст на овие микроорганизми.
Старите гумени и напукнати делови од
опремата се сметаат за добар извор на овие
термофилни бактерии. Неефикасна са-
нитација и чистење, со користење на
пониски температури и/или без хемиско
средство за оваа намена доведува до
зголемен раст на понеотпорни, брзо
размножувачки Грам-негативни микроорга-
низми (колиформни и *Pseudomonas spp.*) и
млечни стрептококи (13).

● *Температура и време на чување на
млекото:* Чувањето на ниска температура,
кое го превенира растот на останатите
микроорганизми во исто време ги пре-

ферира психрофилните бактерии кои може
да се најдат во млекото потекнувајќи од
нечисти животни, од околината и од слабо
одржувана опрема. Минимизирањето на
нивото на контаминација на млекото од
овие извори ќе го намали и бројот на
психрофилните бактерии и нивното
позначајно учество во вкупниот број
бактерии. Овој тип на бактерии се осетливи
на термички третман и не ја преживуваат
пастеризацијата.

При услови на лошо изведено ладење на
млекото на температури повисоки од 6°C,
овозможени се услови за развој и на други
микроорганизми освен на психрофилните.
Иако вакви инциденти се поретко се
случуваат, потребно е поголемо внимание
при транспортот на млекото со канти.
Стрептококите најчесто се поврзуваат со
слабото ладење на млекото. Овие бактерии
ја зголемуваат и киселоста на млекото.
Одредени соеви се одговорни и за појавата
на непријатен мирис кај млекото.
Температурата на чување на млекото над
15°C овозможува развој токму на овие
бактерии (6).

Сепак типот на бактерии кои се раз-
виваат и преовладаат во вкупната
бактериска популација најмногу зависи од
иницијалната микрофлора на суровото
млеко (3).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За определување на вкупниот број
микроорганизми беа анализирани 3470
примероци во периодот од јануари до март
2009 земени од производители низ различни
региони во Р. Македонија. Овие примероци
беа земени и доставени во пластични
стерилни чашки во количина од 50 ml во кои
имаше конзерванс Azidiol (0,25 ml).
Примероците по земањето беа транспорти-
рани на температура од 4°C до Лабо-
раторијата за испитување на квалитетот на
сурово млеко при Факултетот за ветеринарна
медицина во Скопје.

Сите примероци беа анализирани по
акредитирана метода во согласност со ISO
17025 според референци од IDF Standard
161A:1995 Milk-Quantitative determination of
bacteriological quality.

Инструмент кој се користеше за
испитувањата е Bactoscan 8000S (Foss Electric,

Denmark). Овој апарат работи на принцип на боење на бактериите со флуоросцентна боја. Во постапката, по боењето на бактериите, тенок филм од примерокот млеко нанесен на ротирачки диск поминува под објективот на флуоросцентен микроскоп. Овој микроскоп ги брои обоените бактерии како светлосни пулсирања кои се конвертираат по електронски пат и се прикажуваат како нумерички резултат.

РЕЗУЛТАТИ

Од добиените резултати (Табела 1) може да се заклучи дека според домашната регулатива 56.20% од примероците ги исполнуваат зададените критериуми. Ова е значително подобрување за краток период од нашата минатогодишна студија во која само 41.55% од примероците ги исполнуваа зададените критериуми.

Бројот на испитаните примероци кои ги исполнуваат критериумите од Европската регулатива (Council Directive 92/46 EEC) за вкупниот број бактерии изнесува 626 примероци или 18.0%. Овој резултат може да се окарактеризира како слаб, но сепак и во оваа категорија има подобрување од минатогодишните резултати каде учеството на примероци кои содржеа до 100.000 cfu/ml изнесуваше 10.7%. Тоа значи дека домашните производители на млеко ги прифаќаат современите норми и методи во поглед на хигиената, молзењето, исхраната и чувањето на молзните крави.

ДИСКУСИЈА

Процентуалното учество на примероци кои ги исполнуваа критериумите дадени во домашната легислатива изнесуваше 56.20%. Во однос пак на Европската

Табела 1. Резултати за вкупниот број на микроорганизми класифицирани според Правилникот 157

Година	Вкупен број микроорганизми	Број на примероци	%
Вон правилник	над 600.001 cfu/ml	1517	43.72
2009	до 600.000 cfu/ml	299	8.61
2010	до 400.000 cfu/ml	543	15.65
2011	до 200.000 cfu/ml	485	13.98
2012	до 100.000 cfu/ml	626	18.04
Вкупно:		3470	100.0

Табела 2. Резултати за вкупниот број на микроорганизми класифицирани според Council Directive 92/46 EEC

Категорија	Вкупен број на микроорганизми	%
примероци кои ги исполнуваат критериумите дадени во Council Directive 92/46 EEC	0-100,000	18.0
примероци кои не ги исполнуваат критериумите дадени во Council Directive 92/46 EEC	100,001 и повеќе	82.0

легислатива ова учество изнесува 18.0%.
Постои подобрување во оваа категорија во однос на минатогодишната студија (16) каде учеството изнесуваше 41.55% односно 10.7%.

Контаминацијата со микроорганизми на суровото млеко може да биде со разни видови на бактерии од многу извори. Поради ова одредувањето на причината за појавата на висок број бактерии не е секогаш лесно. Иако најчесто постои еден важен извор за високиот број бактерии во збирното млеко, ова може да биде резултат и на комбинација од повеќе фактори (на пр. нечиста опрема и слабо ладење).

ЗАКЛУЧОК

По направените испитувања и сумирање на резултатите заклучокот е дека хигиенските норми во примарното производство на кравјо млеко во Р. Македонија сеуште се на ниско ниво. Со исклучок на мал број на фармери, поголемиот дел од нив не ги почитуваат доследно процедурите за хигиена во чувањето, искористувањето и хранењето на молзните крави. Ова сигурно дека ја нагласува потребата од дополнително ангажирање на лицата кои се вклучени во целиот процес на млекопроизводство тука вклучувајќи ги фармерите, докторите по ветеринарна медицина кои работат во праксата, научниот кадар од образовните институции како и лицата задолжени за оваа проблематика во млекарите.

FACTORS THAT INFLUENCE HIGH BACTERIAL COUNT IN RAW COW MILK

Angelovski Ljupco, Sekulovski Pavle, Jankuloski Dean,
Ratkova Marija, Kostova Sandra, Prodanov Mirko

*Department for food safety, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje,
e-mail: ljangelovski@fvm.ukim.edu.mk*

ABSTRACT

This paper had two aims. The first one was to evaluate the current situation with the bacterial count in the raw cow milk in R. of Macedonia, which is one of the elements that define the raw milk quality. The second aim was to describe several factors that influence the most the bacterial count in the raw cow milk.

For the purposes of this study 3470 milk samples, taken from milk cooling tanks in several regions in R. of Macedonia were taken in the period from January - March in 2009 year.

After the tests were finished it was identified that 56.20% of the samples fulfill the criteria given in the national legislative. Compared with the EU legislative it was noted that only 18.0% of the samples meet the given criteria.

The results obtained clearly indicate at the insufficient hygiene in the breeding of the milk cows and incorrect milk handling after the milking as a result of the unsatisfactory farmers knowledge for the hygiene procedures in the primary milk production.

Key words: TVC, cow milk, milk quality

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bramley, A.J. 1982. Sources of Streptococcus uberis in the dairy herd I. Isolation from bovine feces and from straw bedding of cattle. J. Dairy Res. 49:369.
2. Bramley, A.J., C.H. McKinnon, R.T. Staker and D.L. Simpkin. 1984. The effect of udder infection on the bacterial flora of the bulk milk of ten dairy herds. J. Appl. Bacteriol. 57:317.
3. Bramley, A.J. and C.H. McKinnon. 1990. The microbiology of raw milk. pp. 163-208 In Dairy Microbiology, Vol. 1. Robinson, R.K. (ed.) Elsevier Science Publishers, London.
4. Fenlon, D.R., D.N. Logue, J. Gunn, and J. Wilson. 1995. A study of mastitis bacteria and herd management practices to identify their relationship to high somatic cell counts in bulk tank milk. Brit. Vet. J. 151:17.
5. Galton, D.M., R.W. L.G. Petersson, W.G. Merrill, D.K. Bandler, and D.E. Shuster. 1984. Effects of premilking udder preparation on bacterial counts, sediment and iodine residue in milk. J. Dairy Sci. 67:2580.
6. Gehringer, G. 1980. Multiplication of bacteria during farm storage. In Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. International Dairy Federation Bulletin, Document 120.
7. Gonzalez, R.N., D.E. Jasper, R.B. Busnell, and T.B. Farber. 1986. Relationship between mastitis pathogen numbers in bulk tank milk and bovine udder infections. J. Amer. Vet. Med. Assoc. 189:442.
8. Hogan, J.S., K.L. Smith, K.H. Hoblet, D.A. Todhunter, P.S. Schoenberger, W.D. Hueston, D.E. Pritchard, G.L. Bowman, L.E. Heider, B.L. Brockett and H.R. Conrad. 1989. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. J. Dairy Sci. 72:250.
9. Jeffrey, D.C. and J. Wilson. 1987. Effect of mastitis-related bacteria on the total bacteria counts of bulk milk supplies. J. Soc. Dairy Technol. 40(2):23.
10. Kurweil, R., and M. Busse. 1973. Total count and microflora of freshly drawn milk. Milchwissenschaft 28:427.
11. Richardson, G.H.. 1985. Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 15th

- ed. American Public Health Association. Washington D.C.
12. McKinnon, C.H., G.J. Rowlands, and A.J. Bramley. 1990. The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on the bacterial numbers in bulk milk of eight dairy herds. *J. Dairy Res.* 57:307.
 13. Olson, J.C. Jr., and G. Mocquat. 1980. Milk and Milk Products. P.470. In *Microbial Ecology of Foods*. Vol. II. J.H. Silliker, R.P. Elliott, A.C. Baird-Parker, F.L. Bryan, J.H. Christion, D.S. Clark, J.C. Olson, and T.A. Roberts (eds.). Academic Press, New York, NY.
 14. Palmer, J. 1980. Contamination of milk from the milking environment. In *Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk*. International Dairy Federation Bulletin, Doc. 120.
 15. Pankey, J.W. 1989. Premilking udder hygiene. *J. Dairy Sci.* 72:1308.
 16. Ангеловски, Љ., Јанкулоски, Д., Костова, С., Раткова, М., Ераковиќ-Токалиќ, И., Секуловски, П. 2008. Квалитетот на суровото кравјо млеко во Република Македонија согледан преку испитување на бројот соматски клетки и бројот микроорганизми. *Македонски Ветеринарен Преглед Вол.31, Но.1.*
 17. Tolle, A. 1980. The microflora of the udder. p 4. In *Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk*. International Dairy Federation Bulletin, Document 120.
 18. Zehner, M.M., R.J. Farnsworth, R.D. Appleman, K. Larntz, and J.A. Springer. 1986. Growth of environmental mastitis pathogens in various bedding materials. *J. Dairy Sci.* 69:1932.
 19. Правилник за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката за вршење на службените контроли на млекото и млечните производи. "Сл. весник на РМ" 157/2007
 20. EU 92/46/EEC Council directive laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products. www.eur-lex.europa.eu.
 21. Rysanek, D., Babak, V. and Zouharova, M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinari medicina* 52:223-230. 2007
 22. Jayarao, B.M., Pillai, S.R., Sawant, A.A., Wolfgang, D.R. and Hegde, N.V. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 87:3561-3573. 2004



ИСТРАЖУВАЊЕ ЗА УЛОГАТА НА ОФИЦИЈАЛНИОТ ВЕТЕРИНАР ВО ВКРСТЕНАТА КОНТАМИНАЦИЈА НА ОРГАНИТЕ И ТРУПОТ НА ЛИНИЈА ЗА КОЛЕЊЕ СО ПРИМЕНА НА МАРКЕР МИКРООРГАНИЗМИ

Јанкуловски Деан, Проданов Мирко, Ангеловски Љупчо,
Раткова Марија, Костова Сандра, Секуловски Павле

Институт за храна, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: djankuloski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Месото од цицачи и живина е предмет на посебните прописи прејставени во Анекс IV од Регулацијата 852/2004/ЕЕС. Регулацијата се базира на принципот на индивидуален презлед и ако е неопходно, палијација и инцизија на лимфни јазли, органи и на месата каде е неопходно на трупот од заклатите животиња на линијата за колење. Потенцијално патогените агенси присутни на трупот и организите преку физичкиот контакт (палијација и инцизија) ги контаминираат рацете и опремата на презледувачот, што претставува ризик за вкрстена контаминација. Улогата на официјалниот ветеринар (ОВ) во трансферот на контаминантите е исклучително значајна, имајќи во предвид, дека во секој на работењето манипулира со голем број органи и трупови. За да се утврди влијанието на ОВ во контаминација на труповите при презледот на месо во оваа студија земавме 12 комлети говедски и 18 комлети овчи органи и ги инокулиравме со два лабораториски маркер микроорганизми *E. coli* K12 и *Pseudomonas fluorescens*. Органите беа поделени во три групи по 6 примероци и истите беа нумерирани. Презледот на организите е вршен од примерок 1 до примерок 6 во три различни процедури: 1) без миење на рацете и санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок; 2) со миење на рацете и без санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок; 3) со миење на рацете и со санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок. Потоа, од секој комлет орган беше одреден бројот на маркер микроорганизмите и земени брисеви од опремата која се користеше за презлед, како и од рацете на ОВ пред презледот и по презледот на организите. Од добиените број маркер микроорганизми се забележува дека во процедурата каде не е вршена санитација има најголем трансфер на маркер микроорганизмите, додека во процедура каде има санитација контаминацијата е прекинута и не се пренесува понатаму. Од брисевите земени од опремата и од рацете на презледувачот по миењето се забележува дека и покрај миењето на опремата осигураат маркер микроорганизми.

Клучни зборови: регулатива 852/2004/ЕЕС, официјален ветеринар, *e. coli*, *pseudomonas fluorescens*

ВОВЕД

Животните доставени за колење можат потенцијално да бидат инфицирани со микроорганизми, проследено со клинички знаци детектирани при прегледот ante-mortem, или лезии детектирани при инспекцијата post-mortem (1). Извештаите укажуваат дека при

· инспекцијата post-mortem на животни кои при
· прегледот ante-mortem не покажале клинички
· знаци можно е да се детектираат единствено
· 20% од сите макроскопски патолошки
· промени кои всушност претставуваат само
· 1%, или помалку од бројот на животните (1,
· 4). Од друга страна, животните за колење
· можат да бидат и носители на патогени

микроорганизми во различни ткива, а притоа при инспекцијата ante mortem да не покажуваат клинички знаци или патолошки промени кои подоцна ќе бидат видливи при инспекцијата post-mortem (1, 2). Во текот на колењето и обработката на труповите, патогените микроорганизми можат директно или индиректно да бидат пренесени на месото или органите на кои претходно не биле присутни. Микроорганизмите не се видливи за ОВ во текот на спроведувањето на конвенционалната инспекција на трупот, и со самата манипулација на трупот и органите при post-mortem прегледот, може да настане дополнителна контаминација (3, 5).

Месото од цицачи и живина е предмет на посебни прописи претставени во Анекс IV од Регулативата 852/2004/ЕЕС за организација на внатрешниот надзор на производителите на производи од анимално потекло наменети за исхрана на луѓето (1, 5). Регулативата се базира на принципот на индивидуален преглед, и ако е неопходно, палпација и инцизија на лимфните јазли, органите и каде е неопходно на трупот од закланите животни на линијата за колење. Една од најважните цели на post-mortem инспекцијата на месото е да се превенира пренесување на зоонотските инфекции кон потрошувачот односно месото и органите кои не се безбедни да не стигнат во ланецот на храната (6, 7, 8). Потенцијално патогените агенси присутни на трупот и органите преку физичкиот контакт (инцизија и палпација) ги контаминираат рацете и опремата на ОВ што претставува значаен ризик за вкрстена контаминација. Превенцијата на вкрстената контаминација при прегледот на месото е можна само ако се идентификуваат патиштата на трансфер, ако се проценат и прекинат. Улогата на ОВ во трансферот на контаминентите е исклучително значајна, имајќи во предвид, дека во текот на работењето манипулира со голем број органи и трупови.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Официјален ветеринар

Секој од примероците во студијата беше предмет на официјална post-mortem инспекција изведена од ОВ, со повеќе од 30 годишно работно искуство, факт кој беше од исклучително значење во проценката на влијанието на рутинското работење на

искусен официјален ветеринар и неговото влијание врз индуцираната вкрстена-контаминација.

Маркер микроорганизми

Користевме два лабораториски маркер микроорганизми *E. coli* K12 и *Pseudomonas fluorescens* кои се резистентни кон антибиотици.

● *E. coli* K12

Со еза зедовме една потврдена колонија *E. coli* K12 (200 µl резистентна на Налидиксична киселина) од површината на претходно засеана плоча со нутритивен агар и инкубирана на температура од 37°C за 24 часа во аеробни услови. Колонијата ја суспендиравме во епрувета со 10 ml HBI (heart brain infusion broth, Merck, Germany) и ја инкубиравме на 37°C, за 24 часа за збогатување, односно за подготовка на работна култура. По предвидената инкубација, 1 ml од работната култура префрливме во епрувета со 10 ml MRD (maximum recovery diluents, Oxoid, UK) за подготовка на иницијален инокулум за контаминација на органите и 1 ml префрливме во 9 ml MRD со понатамошни децимални разредувања за определување на бројот на бактерии во мл инокулум. Инокулумите во волумен од 10 ml бактериска суспензија во MRD која содржи 7,98 log *E. coli* K12/ml беа користени и за контаминација на органите од двата животински вида користени во експериментот-говеда и овци. Апликацијата на иницијалниот инокулум ја вршевме со истурање на MRD суспензијата по површината на органите и темелно ја размачкавме со дланките со примена на стерилни ракавици.

● *Pseudomonas fluorescens*

Со еза зедовме една потврдена колонија *Ps. fluorescens* (резистентен на cephaloridine, fucidin и ceftrimide антибиотски додаток) од површината на претходно засеана плоча CFC агар (*Pseudomonas* C-F-C Selective Agar, Merck, Germany) инкубирана на 30°C, за 24 часа. Културата ја суспендиравме во епрувета со 10 ml TBS (Tryptic Soy Broth, Merck, Germany) и ја инкубиравме на 30°C, за 24 часа. По предвидената инкубација 1 ml од работната култура префрливме во епрувета со 10 ml MRD за подготовка на иницијален инокулум за контаминација на органите и 1 ml

префрливме во 9 ml MRD со понатамошни децимални разредувања за определување на бројот на бактерии во ml инокулум. Овој инокулум беше искористен во тестирањето единствено за говедските органи. Инокулумот во количество од 10 ml бактериска суспензија во MRD која содржи $7,69 \log Ps. frulorescens/ml$ беше аплициран во лимфните јазли со инјектирање. Извршивме инјектирање во *Ln. eparterialis*, *Ln. bifurcations sinister*, *Ln. bifurcationis dexter*, *Lnn. mediastinales craniales, mediales et caudales*.

Органи од заклани животни

Користевме органи од говеда и овци непосредно заклани во кланица. Органите ги поделивме во групи. Го инокулиравме само првиот орган од секоја група со претходно подготвениот инокулум со маркер микроорганизми. Инуколацијата се вршеше во најкраток можен рок по егзентерацијата најдоцна по 15 минути.

Овчи органи

Беа употребени 18 комплети овчи органи од градната празнина составени од двете белодробни крила и срце поврзани со природните врски. Органите беа поделени во 6 групи составени од 3 комплети органи. Истите со налепница беа означени со број на групата и број на примерокот.

Говедски органи

Беа употребени 12 говедски бели дробови составени од двете белодробни крила поделени во две групи од 6 органи. Белодробните крила беа означени со бројот на групата и бројот на примерокот во секоја група поединечно. б

Брисеви од дланките, престилката и ножот на ОВ

Брисевите беа земени од различни делови на опремата и од престилката на ОВ и тоа, латекс ракавици на рацете, наметка во време пред, во текот и по работењето.

Постапка со овчите органи

Врз трите групи овчи органи применивме три различни процедури.

Процедура 1: Органите од првата група ги прегледуваме со палпација и инцизија од примерокот број 1 кон примерокот број 6, без миеење на рацете и санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок

Процедура 2: Органите од втората група ги прегледуваме со палпација и инцизија од примерокот број 1 кон примерокот број 6 со миеење на рацете и без санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок

Процедура 3: Органите од третата група ги прегледуваме со палпација и инцизија од примерокот број 1 кон примерокот број 6 со миеење на рацете и со санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок

Потоа секој комплет органи ги внесовме во стерилна стомакер кеси и го третиравме како една проба и ги тестиравме на маркер микроорганизми *E. coli K12*.

Постапка со говедските органи

Врз двете групи говедски органи применивме две различни процедури.

Процедура 1: Органите од првата група ги прегледуваме со палпација и инцизија од примерокот број 1 кон примерокот број 6 без миеење на рацете и санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок

Процедура 2: Органите од втората група ги прегледуваме со палпација и инцизија од примерокот број 1 кон примерокот број 6 со миеење на рацете и со санитација на ножот помеѓу секој поединечен примерок

По прегледот говедските белодробни крила со нож ги поделивме по надолжната оска-медијана на лево и десно белодробно крило. Едното белодробно крило беше испитувано на *E. coli* маркер, другото на *Ps. fluorescens*.

Земање примероци од органите

Примероците од сите органи ги земавме индивидуално со плакнење со соодветен микробиолошки растворувач или бујон (MRD, HIB или TSB). Органите по прегледот ги стававме во стомакер кеса претходно означена со бројот на групата и бројот на примерокот. Потоа, овчите органи од процедурата 1, 2 и 3 и говедските од процедурата 1 ги плакневме со додавање 75 ml MRD, и за говедските од процедурата 2 со додавање 75 ml TSB. Потоа стомакер кесите силно ги мешавме со раце 1 минута.

За да ја избегнеме можноста од контаминација на примерокот во текот на процедурата на земање примероци, испироците од органите беа земени во обратен редослед од редоследот на прегледот започнувајќи со органот број 6 кон органот со број 1 за секоја група поединечно.

Испирокот од органите го префрлаваме во 180 ml пластични стерилни чашки означени со број на примерок и број на органот и веднаш ги испорачуваме во лабораторија на тестирање.

Лабораториска постапка

Броење маркер микроорганизми од секој примерок

Од секој испирок подготвивме децимално разредување со префрлање 1 ml во епрувета која содржи 9 ml MRD, добивајќи разредувања од 10^{-1} до 10^{-3} . Од секое разредување во празна петриева плоча префрлаваме по 1 ml. За тестирање користевме метод на разлеани плочи. За *E. coli* K12 разлеавме врз плочата со суспензија 20 ml VRBG инкорпориран со 200 mg/ml налидиксична киселина, а за тестирање на *Ps. fluorescens* CFC агар кои содржи антибиотски додаток загреани на 47°C.

Детекција на присуство на тест микроорганизми во испирокот од секој примерок

Милилитар од испирокот префрливме во епрувета која содржи 10 ml НИБ во инкубатор за 24 часа на 37°C за збогатување и контрола на присуство на *E. coli* K12. По инкубацијата, со еза со метод на исцрпување беше инокулиран врз површината на петриева плоча со VRBG која содржи 200 µg/ml Налидиксична киселина. Истото го направивме и за секој испирок за тест на

присуство на *Ps. fluorescens*, кој по инкубацијата во TSB за 24 ч на 30°C беше инокулиран со еза врз површината на CFC агар кои содржи антибиотски додаток.

Детекција на тест микроорганизми од брисеви, опрема и прибор на ОВ

Брисевите беа земени со примена на методот на влажен и сув брис. Брисевите беа внесени во епрувети со 10 ml MDR, и кратко време по земањето беа однесени во лабораторија за обработка. По мешањето на брисевите во епруветата со вортекс, 1 ml од секој брис беше преместен во епрувети кои содржат 10 ml TSB и НИБ за детекција на присуство на маркер микроорганизмите *E. coli* и *Ps. fluorescens*. НИБ беше инкубиран 37°C, а TSB беше инкубиран на 30°C во време од 24 часа. Сите бујони за збогатување, со еза беа инокулирани на површината на VRBG и CFC медиуми инкорпорирани со антимицробни супстанции кој го инхибираат растот на сите микроорганизми, освен маркер микроорганизмите користени за тестот.

РЕЗУЛТАТИ

Резултати од прегледот на овчите органи

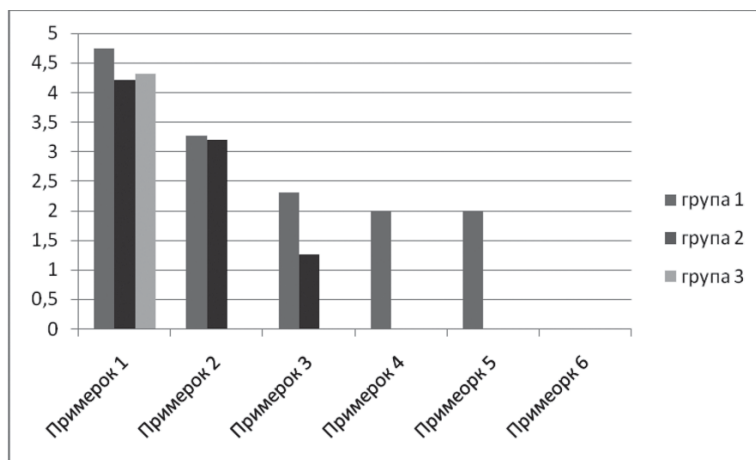
Резултатите од истражувањето се претставени во log/ml од испирокот, и се дадени во табела 1. Органите означени со примерок 1 во трите групи се инокулирани со тест микроорганизми.

Табела 1. Резултати од процедурите 1, 2 и 3 при прегледот post-mortem при преглед на овчите органи изразени во log

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примерок 5	Примерок 6
група 1	4,74	3,27	2,3	2	2	0
група 2	4,21	3,2	1,25	0	0	0
група 3	4,32	0	0	0	0	0

Се забележува дека процедурата 1 во која ОВ не ги мие рацете и ножот е причина за најголем трансфер на маркер микроорганизмите. Со ваквата постапка контаминацијата е пренесена до примерокот број 5. Спротивно на ова, процедурата 3 во која ОВ ги мие рацете и го мие и санитира ножот веднаш по првиот контаминиран орган контаминацијата е прекината, односно не се пренесува понатаму. Графички приказ на добиените резултати е претставен во графикон 1.

Графикон 1. Резултати од процедурите 1, 2 и 3 при прегледот post-mortem.



И покрај тоа што со методот на броење на маркер микроорганизмите во испирокот ја утврдивме границата на контаминација на органите за секоја група, извршивме понатамошна детекција на нивно присуство во органите кој дадоа негативни резултати. Притоа утврдивме дека контаминацијата е присутна и во еден до два органи во секоја група во која не сме утврдиле маркер микроорганизми, односно нивниот log/ml бил 0. Резултатите за детекција на *E. coli* K 12 во испирокот од овчите комплети органи се дадени во табела 2.

Табела 2. Раст на *E. Coli* K 12 по збогатување на испирокот во НІВ на VRBG

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примерок 5	Примерок 6
група 1	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно
група 2	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	негативно	негативно
група 3	позитивно	позитивно	негативно	негативно	негативно	негативно

Резултати од прегледот на говедските органи

Маркер микроорганизам *E. coli* K 12

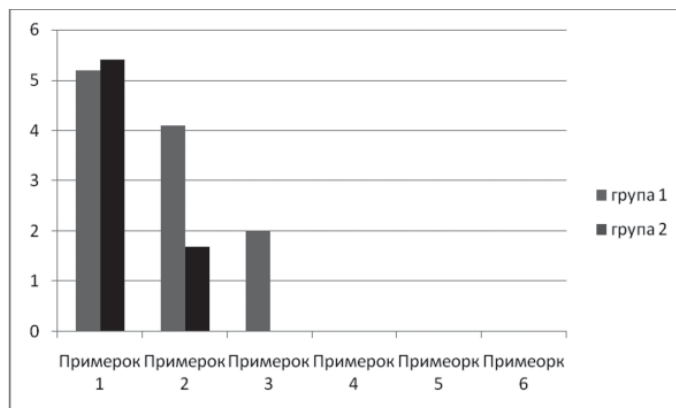
Резултатите од истражувањето за присуство на *E. coli* K 12 се претставени во log/ml од испирокот и се дадени во табела 3. Органите означени со примерок 1 во двете групи се инокулирани со тест микроорганизми.

Табела 3. Резултати од процедурите 1 и 2 при прегледот post-mortem на говедските органи изразени во log

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примерок 5	Примерок 6
група 1	4,2	2,1	0,92	0	0	0
група 2	4,0	0,69	0	0	0	0

Се забележува дека трансверот на контаминација е значително помал во споредба со овчите органи при приближно исто количество иницијални инокулуми. Причината за тоа веројатно е масата и поголемата површина на говедските органи. При примена на процедурата 1 во која ОВ не ги мие рацете и ножот утврдивме трансфер само до третиот примерок. За споредба, со примена на процедурата 2 во која ОВ ги мие рацете и го мие и санитира ножот веднаш меѓу секој прегледан орган контаминацијата се пренесува за еден орган повеќе во споредба со овчите органи меѓутоа со незначително ниво на контаминација од 0,69 log/ml. Графички приказ на добиените резултати е претставен во графикон 2.

Графикон 2. Резултати од процедурите 1 и 2 при прегледот post-mortem



Идентично како и во случајот со овчите органи и кај говедските органи пристапиме кон детекција на присуство на маркер микроорганизам *E. coli* K12 во испирокот од негативните органи. И во овој случај утврдивме дека контаминацијата е пренесена во два следни органа во секоја група во кои не сме утврдиле маркер микроорганизми односно нивниот log/ml бил 0. Резултатите од детекцијата на *E. coli* K 12 во испирокот од говедските белодробни крила се дадени во табела 4.

Табела 4. Раст на *E. coli* K 12 по збогатување на испирокот во НИБ на VRBG

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примеорк 5	Примеорк 6
група 1	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	негативно	негативно
група 2	позитивно	позитивно	позитивно	негативно	негативно	негативно

Маркер микроорганизам *Ps. fluoresces*

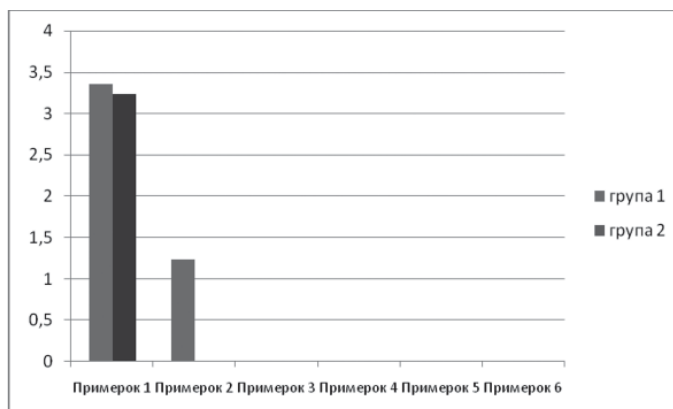
Резултатите од истражувањето за присуство на *Ps. fluoresces* се представени во log/ml од испирокот и се дадени во табела 5. Органите означени со примерок 1 во двете групи се инокулирани со тест микроорганизми.

Табела 5. Резултати од процедурите 1 и 2 при прегледот post-mortem на говедските органи изразени во log

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примеорк 5	Примеорк 6
група 1	4,36	1,23	0	0	0	0
група 2	4,24	0	0	0	0	0

Од табелата може да се забележи многу краток праг на трансфер на контаминација за *Ps. fluorescens* кој завршува при процедурата 1 веднаш по вториот примерок, односно орган. Причина за тоа веројатно е начинот на апликација на иницијалчната суспензија на маркер микроорганизмите со инјектирање во сите лимфни јазли на белите дробови кои задолжително се засекуваат при стандардниот преглед post-mortem. Резултатите од процедурата 2 покажуваат прекин на контаминацијата веднаш по контаминираниот орган. Причина за тоа се мерките на миење и санитација на рацете и ножот. Графички приказ на добиените резултати е претставен во графикон 3.

Графикон 3. Резултати од процедурите 1 и 2 при прегледот post-mortem



При тестовите за детекција на присуство на маркер микроорганизмот *Ps. fluorescens* забележавме најголем пренос на контаминација во споредба со маркерот *E. coli* K12. Односно, кај три дополнителни три органи од двете групи во кој log/ml за маркер микроорганизмот бил 0 детектиравме *Ps. fluorescens*. Резултатите од детекцијата на *Ps. fluorescens* во испирокот од говедските белодробни крила се дадени во табела 5.

Табела 5. Раст на *Ps. fluorescens*, по збогатување на испирокот во TSB инокулиран на CFC.

	Примерок 1	Примерок 2	Примерок 3	Примерок 4	Примерок 5	Примерок 6
група 1	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	негативно
група 2	позитивно	позитивно	позитивно	позитивно	негативно	негативно

Резултати од брисевите земени од ОВ

Брисевите при прегледот на овчите органи ги земавме од опрема и прибор на ОВ и истите ги тестиравме на детекција на *E. coli* K12. Добиените резултати се претставени во табела 6.

Табела 6. Раст на *E. coli* K12 на VRBG агар (од НІВ) по прегледот на говедските органи

Примерок	<i>E. coli</i> K12
Нож на почетокот на прегледот	-
Нож на крајот од прегледот на првата група	+
Нож на крајот од прегледот на втората група	+
Престилка на почетокот на прегледот	-
Престилка на крајот на првата група	+
Престилка на крајот на втората група	+
Раце со латекс ракавици Д и Л на почетокот	-
Дланка Л со латекс ракавици по миењето по завршување на прегледот	+
Дланка Д со латекс ракавици по миењето по завршување на прегледот	+

Забележливо е дека контаминацијата од органите се пренесува без разлика на тоа дали инспекторот ги мие и санитира рацете и ножот. Тоа значи дека контаминацијата не може да се отстрани без разлика на бројот на прегледаните органи со примена на процедурите 1 и 2.

При прегледот на говедските органи земените брисеви ги тестиравме на двата маркер микроорганизми *E. coli* K12 и *Ps. fluorescens*. Добиените резултати се претставени во табела 7.

Табела 7. Раст на *Ps. fluorescens* на CFC agar (од TSB) по прегледот на говедските органи

Примерок	VRBG agar (од HIB)		CFC agar (од TSB)	
	Пред перење	По перење и санитација	Пред перење	По перење и санитација
Нож	Поз.	Поз.	Поз.	Поз.
Дланки Л и Д	Поз.	Нег.	Поз.	Поз.

Отсуството на маркер микроорганизмот *E. coli* K12 на дланките на ОВ по миење на рацете укажува на можноста за отстранување на контаминацијата со правилно спроведување на постапката на миење со течен сапун и вода загреана на 45°C. Присуството на маркерот *Ps. fluorescens* земен од истата површина на дланката е показател за можноста некој микроорганизми поцврсто да се прилепат, односно дека истите практично и не можат да се отстранат. Исто така од тестот за детекција се гледа дека методот на миење и санитација на ножот не е доволен за отстранување и на двата маркер микроорганизми.

ЗАКЛУЧОК

Ова истражување го покажува значајното место на патиштата при пренесувањето на контаминацијата која е предизвикана од ОВ при post-mortem прегледот. Добиените резултати може да се применат во подобрувањето на хигиенските практики во текот на секојдневните процедури при post-mortem прегледот изведувач од ОВ. Од добиените резултати може да се изведат следниве заклучоци.

1. Легислативата не ги посочува начините за избегнување на контаминација на неконтaминирани органи со патогени и други контаминенти кои не можат да бидат макроскопски идентификувани.
2. Постојат недостатоци во стандардната процедура за санитација на ножот, бидејќи наложува ОВ само да го потопи сечивото на ножот во воденото купатило, но не и дршката која останува над нивото на водата загреана на 81°C.
3. ОВ при стандардното работење не ја мие дршката и ножот ниту ја мие кога истата е контаминирана со видлива нечистотија.

4. Иако престилката е миена со вода загреана на 45°C, не е возможно да се измијат микроорганизмите или целата видлива нечистотија/контаминација, односно не е возможно да се ослободи од сите микроорганизми.
5. Брисевите земени од латекс ракавици од дланките на ОВ во текот на работењето беа позитивни, но позитивни резултати се добиваат дури и по секое миење со вода на 45°C, и по завршното миење по работата. Според тоа, ако иницијалната контаминација на површината на месото/органите не е видлива за ОВ и таа не може да се избегне. Значи, главната причина за непосакуваното распространување на контаминентите на стерилното месо и органи е прегледот на месото и органите post-mortem. Практично не е возможно ОВ во текот на работата да остане неконтaминиран. И покрај тоа што ОВ ги имплементира сите превентивните мерки кои се на сила, со моменталните стандарди за процедурите на санитација на рацете и престилката и стерилизација на ножот и останатата опрема, вкрстената контаминација при работата на ОВ може да биде редуцирана, но за жал не може да биде елиминирана.

RESEARCH FOR ROLE OF OFFICIAL VETERINARY INSPECTOR IN CROSS CONTAMINATION OF OFFAL AND CARCASS AT SLAUGHTERLINE WITH USE OF MARKER MICROORGANISMS

Jankuloski Dean, Prodanov Mirko, Angelovski Ljupco,
Ratkova Marija, Kostova Sandra, Sekulovski Pavle

Food institute, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje
e-mail: djankuloski@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Red meat and poultry meat is subject of legislation presented in Annex IV of Regulation 852/2004/EEC. Regulation is based on principle of individual examination and if necessary, palpation and incision of lymph nodes, offal and where necessary carcass from slaughtered animals at the slaughter line. Potentially pathogenic agents present on the carcass and offal through physical contact (palpation and incision) are source for contamination of the palms and equipment of meat examiner that pose risk for cross contamination. The role of official veterinarian (OV) in transfer of contaminants is extremely important, having in mind that during his work he manipulates with large number of offal and carcasses. To estimate the role of OV in carcass contamination during meat examination in this study we use 12 cattle and 18 sheep sets of organs and afterwards we inoculate them with two laboratory marker microorganisms *E. coli* K12 and *Pseudomonas fluorescens*. Offal were divided in groups composed from 6 samples and they were numerated. Examination of the offal is performed from sample number 1 to sample 6 using three different procedures: 1) without washing of hands and knife sanitation between each sample; 2) with washing of hands and without sanitation of the knife between each individual sample; 3) with washing of the hands between each individual sample. After that from each set of offal the number of marker microorganisms were determined and swabs were taken from the equipment that have been used in examination and surface of the hands of OV before and after the examination. From achieved number of marker microorganisms it can be noticed that in procedure where sanitation is not performed there is highest transfer of contamination marker microorganisms, while in procedure where sanitation is performed transfer of contamination have been disrupted and isn't going further. Swabs token from the equipment and hands of examiner after washing it can be noticed that despite washing there are still markers microorganisms present on the equipment.

Key words: regulation 852/2004/EEC, official veterinarian, *e. coli*, *pseudomonas fluorescens*.

ЛИТЕРАТУРА

1. The EFSA Journal (2004) 54, 1-49, Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the commission on meat inspection procedures for lamb and goats.
2. Bell, R.G. and Hathaway, S.C. (1996). The hygienic efficiency of conventional and inverted lamb dressing systems. Journal of Applied Bacteriology, 81, 225-234.
3. Berends, B.R., Snijders, J.M.A. and van Logtestijn, J.G. (1993.) Efficacy of current EC meat inspection procedures and some proposed revisions with respect to microbiological safety and quality assurance – A critical review. Vet. Rec. 133, 411-415.
4. Cenci Goga, B.T., Trevisani, M., Loschi, A.R. and Severini, M. (1996.) Pelt removal and lamb carcass contamination. In: Hinton, M.H., Rowlings, C. (Eds.). Concerted Action CT 94-1456: Factors affecting the microbial quality of Meat 3.
5. Slaughter and Dressing. Eds. M.H. Hinton and C. Rowlings. University of Bristol Press, UK, pp. 145-148.
6. EC (European Community), Anonymous (2001.) European Commission: Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food, and man in the European Union and Norway in 2001.
7. Harbers, A.H.M. (1991.) Aspects of meat inspection in an integrated quality control system for slaughter pigs. Thesis, Utrecht University, 136 (quoted by Snijders and van Knapen, 1993).
8. Herenda, D. (1994.) Manual of meat inspection for developing countries. FAO, Rome. (www.fao.org/docrep/003/t0756e/T0756E01.htm)



АНАТОМСКА КЛАСИФИКАЦИЈА НА СЕГМЕНТАЛНИТЕ АРТЕРИСКИ ГРАНКИ НА A.RENALIS КАЈ СВИНСКИ БУБРЕЗИ

Пендовски Лазо, Илиески Влатко,
Петков Владимир, Поповска-Перчиник Флорина

Катедра за Функционална морфологија,
Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: lpendovski@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Целта на истражувањето е анатомска класификација на сегменталните артерии во свински бубрези врз основа на нивната поставеност и дистрибуција во бубрежниот паренхим.

Вкупно се анализирани 109 бубрега земени од две хибридни раси на свињи (62 бубрега од раса ландрас/јоркшир и 47 бубрега од раса даланд) со просечна тежина од 95 кг и просечна старост од 5 месеци. Интравеналната дистрибуција на завршните гранки на a.renalis во бубрезите е анализирана на 3-димензионални корозивни силиконски S10 одливки во кои артериите се прикажани заедно со карлично-чашкениот систем.

Кај двете раси, секој бубрег има една бубрежна артерија која се дели на кранијална и каудална примарна гранка (93.54% кај расата ландрас/јоркшир и 89.36% кај расата даланд) односно на дорзална и вентрална примарна гранка (6.46% кај расата ландрас/јоркшир, и 10.64% кај расата даланд) ($\bar{u} > 0.05$). Во свинските бубрези утврдени се три типови на артериски системи класифицирани како: тип I (79.03% кај расата ландрас/јоркшир и 82.97% кај расата даланд) кој е високо варијабилен и се јавува во три подтипови (I-a, b, c), тип II (14.51% кај расата ландрас/јоркшир и 6.39% кај расата даланд) и тип III (6.46% кај расата ландрас/јоркшир и 10.64% кај расата даланд) ($\bar{u} > 0.05$).

Според резултатите, васкуларната поставеност на артериите во свинскиот бубрег овозможуваат крвоснабдувањето да е поделено на региони што е предуслов за примена на бескрвна сегментална ресекција на органот и нејова употреба во клиничката експериментална медицина.

Клучни зборови: свински бубрези, бубрежна артерија, сегментални артерии, корозивни одливки, класификација

ВОВЕД

Кај цицачите, бубрежна артерија (a.renalis) ги васкуларизира бубрезите (1). Бубрежната артерија е крвен сад кој излегува од бочната страна на абдоминалната аорта (1, 3-5, 15, 30, 35). На самиот влез во хилусот на бубрегот се дели на завршни сегментални гранки кои во паренхимот на бубрегот ги даваат интерлобарните, лачните и интерлобарните артерии (3-5). Познавањето на

·
· поставеноста на сегменталните артерии во
· бубрезите и нивната дистрибуција во
· паренхимот е особено важно при примената
· на некои хируршки интервенции како што се
· васкуларната реконструкција на бубрезите,
· клиничката трансплантација и ксено-
· трансплантација (7-12, 25).
· Денес, сегменталната артериска струк-
· тура на бубрезите е предмет на интензивни
· истражувања кај цицачите. Кај некои видови
· како мачките (18,27), кучињата (3, 18, 29),

зајаците(32), козите и овците(4-6), говедата(22), мајмуните(21) и некои диви животни(20) дистрибуцијата на сегменталните гранки на а.renalis во бубрезите е добро проучена. Иако васкуларната анатомија на свински бубрези интезивно се истражува во последната декада(15, 30, 35) се уште постои недостаток на податоци за разгранувањето на сегменталните артерии во бубрежниот паренхим.

Токму затоа целта на овој труд е анатомска класификација на сегменталните артерии во свински бубрези врз основа на нивната поставеност и дистрибуција во бубрежниот паренхим.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Студијата е изведена на Катедрата за функционална морфологија при Факултетот за ветеринарна медицина - Скопје. Материјалот користен за изработка на овој труд опфаќа 109 бубрега земени од две хибридни раси на свињи (62 бубрега од ландарс/јоркшир и 47 бубрега од даланд) со просечна тежина од 95 кг и просечна старост од 5 месеци. Бубрезите се земени рандомизирано за време на колење на животните во кланица. Извадени се во пар заедно со големите крвни садови (aorta и v.cava caudalis) со цел да се зачува садовно-уринарната петелка интактна. Во анализа се вклучени бубрези без патолошки промени на бубрежниот паренхим.

Интрареналната дистрибуција на завршните гранки на а.renalis во бубрезите е анализирана на 3-димензионални корозивни одливки во кои артериите се прикажани заедно со карлично-чашкениот систем.

Корозивните одливки од васкуларниот и собирчкиот систем на бубрезите се подготвени со инјектирање на мешавина на силикон-S10 и издолжувач-S3 во сооднос 100:1 а како зцврснувач на силиконската маса употребен е S6-зацврстувач во сооднос 0.5% од инјектираната маса.

Постапката започнува кога во луменот на а.renalis и уретерот се поставени флексибилни катетери со дијаметар од 3мм. Преку катетрите, артериските крвните садови се инјектирани со 50ml физиолошки раствор во

кој е додаден хепарин(250 i.e/l NaCl) за да се спречи коагулацијата на заостанатата крв во бубрежните капилари(27, 34). Потоа бубрезите се измиваат со ладна проточна вода во времетраење од 12 часа. Пред инјектирање на полимерот, крвните садови на бубрезите повторно се испират со дополнителни 50ml физиолошки раствор со што целосно се одстранува заостанатата крв од нивниот лумен(34).

Кај вака подготвените бубрези, во стеблото на а.renalis со помош на шприц и континуиран благ притисок се инјектира 5-8ml силиконска маса во која е додаден црвен пигмент(BIODUR Paste Red AC50) додека преку уретерот се инјектира 10-15ml силикон. За подобра визуелизација на карлично-чашкениот систем, во силиконот кај одредени примероци е додаден жолт пигмент(BIODUR Paste Yellow AC53).

Корозијата е направена со комерцијална концентрирана HCl до потполно разградување на органската материја оставајќи ги три-димензионалните внатрешни одливки на системите кои се инјектирани.

РЕЗУЛТАТИ

Кај двете раси, утврдено е дека секој бубрег има една бубрежна артерија(а.renalis). Бубрежната артерија на самиот влез во хилусот на бубрегот или во него се дели на две примарни артериски гранки. Така во 93.54% кај ландрас/јоркшир односно во 89.36% кај даланд, а.renalis се дели на завршни кранијални и каудални гранки кои се движат кон кранијалниот односно каудалниот пол на бубрегот. Кај овој начин на разгранување, примарните гранки на а.renalis во бубрегот имаат сагитална (лонгитудинална) поставеност. Во останатите 6.46% кај ландрас/јоркшир, односно 10.64% кај даланд, бубрежната артерија се дели на дорзални и вентрални гранки кои доспеваат до дорзалната односно вентралната површина на бубрегот. Васкуларната поставеност на примарните гранки кај овој тип на разгранување е трансверзална. Статистички сигнификантна разлика помеѓу двете раси во однос на примарната поделба на а.renalis не постои.($p>0.05$) (табела 1)

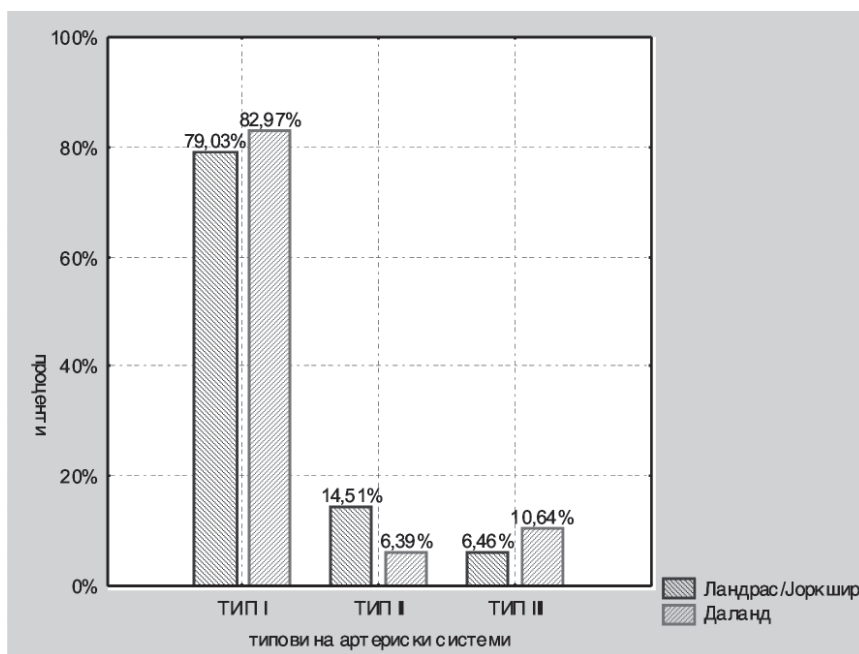
Табела 1. Резултати за примарната поделба на a.renalis во свински бубрези

БУБРЕЖНА АРТЕРИЈА (a.renalis)	ландрас/јоркшир	далланд	p-level
	(%) број/вкупен број	(%) број/вкупен број	
кранијални и каудални завршни гранки	93.54% (58/62)	89.36% (42/47)	0.4652
дорзални и вентрални завршни гранки	6.46% (4/62)	10.64% (5/47)	0.3470

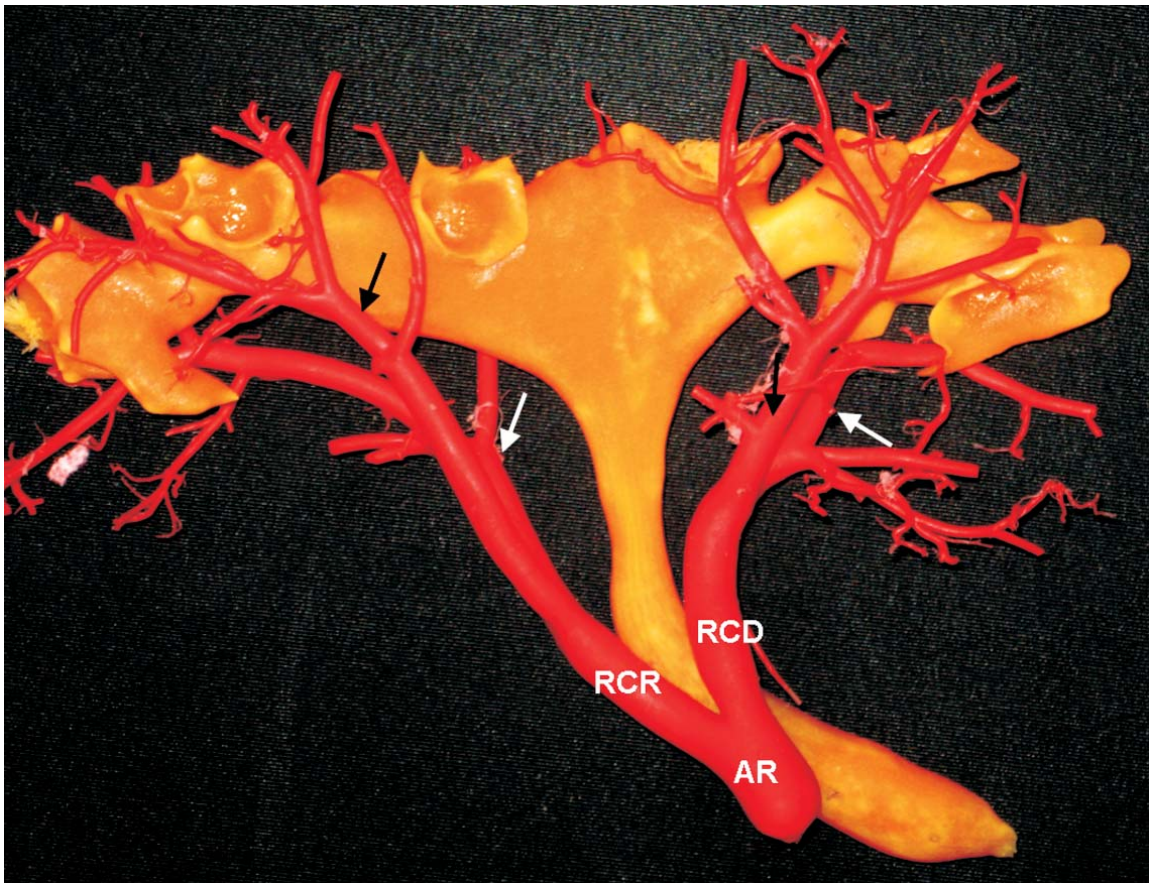
Според начинот на разгранување на бубрежната артерија во бубрегот, областите кои се васкуларизирани од завршните сегментални артерии како и нивната васкуларна поставеност, утврдени се три типови на артериски системи кои се класифицирани како тип I, тип II и тип III.

Процентуалната застапеност на различните типови артериски системи кај испитуваните раси е графички прикажана во графикон 1.

Графикон 1. Процентуална застапеност на различните типови на артериски васкуларни системи во бубрезите кај двете раси

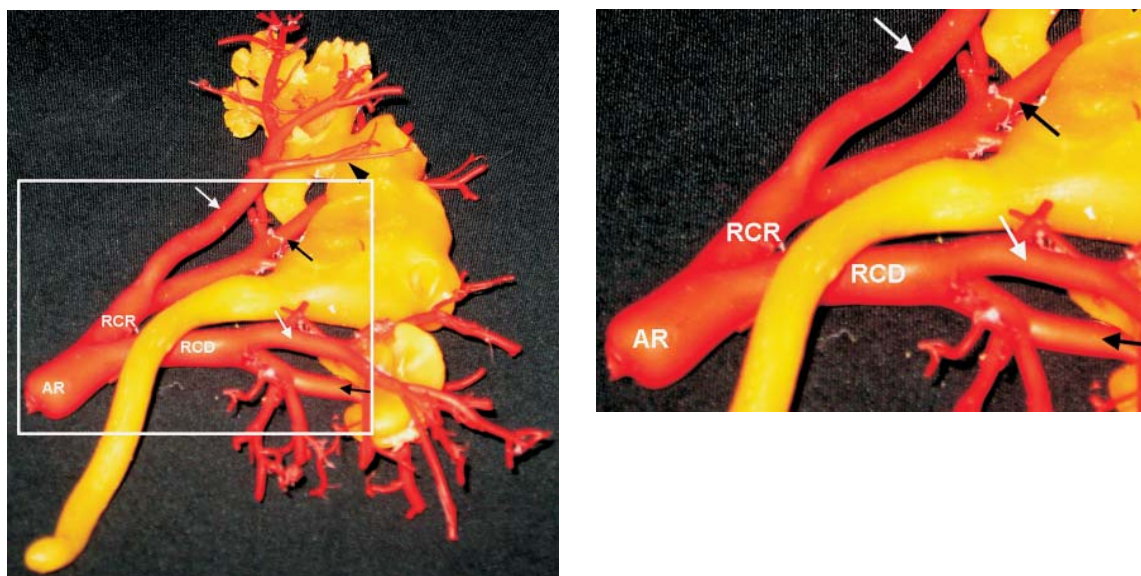


Кај **типот I**, (79.03% кај ландрас/јоркшир и 82.97% кај далланд) ($p > 0.05$), примарните гранки на a.renalis (ramus cranialis et ramus caudalis) преку бубрежниот синус доспеваат во кранијалниот односно каудалниот пол на бубрегот и потоа ги даваат завршните сегментални артерии кои се разгрануваат во три подваријации означени како: Ia, Ib и Ic.



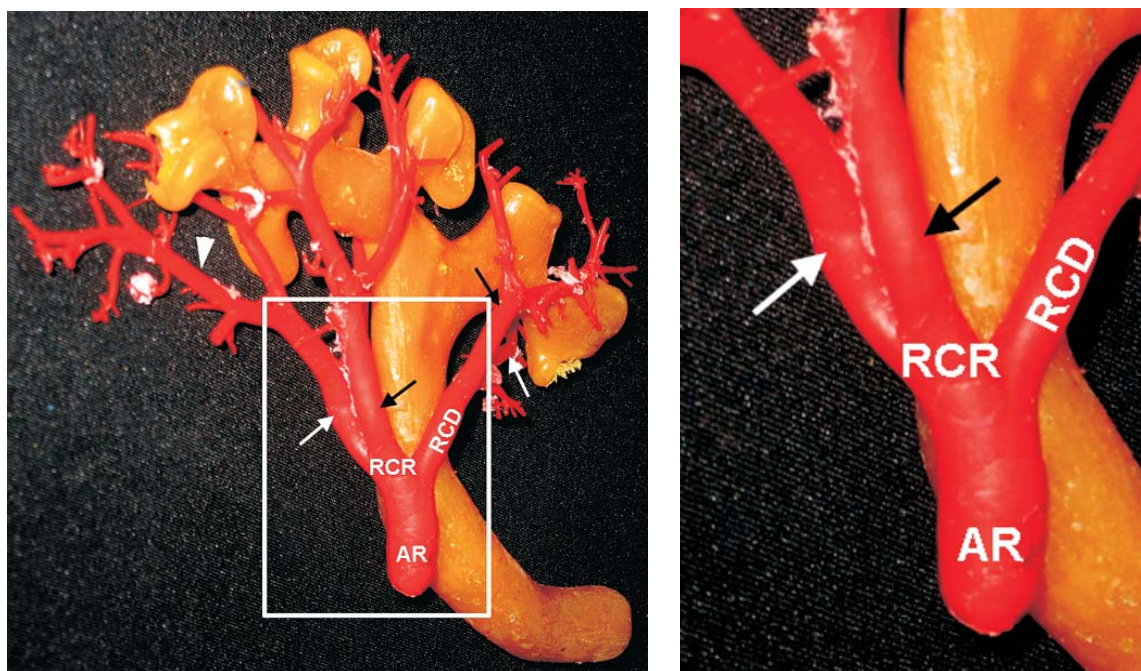
Слика 1. Вентрална површина на карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. *Артериски џиџи 1a.* Бубрежната артерија (AR) се дели на кранијална поларна гранка (RCR) и каудална поларна гранка (RCD) кои потоа ги даваат дорзалните сегментални артерии (бели стрелки) и вентралните сегментални артерии (црни стрелки).

Во *џиџи 1a* кранијалната и каудалната поларна гранка на бубрежната артерија се приближно еднакви по должина артериски крвни садови кои во половите на бубрегот ги даваат завршните дорзални и вентрални сегментални артерии (aa. segmentales dorsales et aa. segmentales ventrales). (слика 1 и 2) Вентралната сегментална артерија од кранијалната поларна гранка (a. segmenti cranialis ventralis) ја васкуларизира вентралната површина на кранијалниот пол од бубрегот додека вентралната сегментална артерија од каудалната поларна гранка (a. segmenti caudalis ventralis) ја васкуларизира вентралната површина од каудалниот пол на бубрегот. Дорзалната површина на кранијалниот и каудалниот пол на бубрегот е васкуларизирана од дорзалните сегментални артерии (a. segmenti cranialis dorsalis и a. segmenti caudalis dorsalis) на кранијалната и каудалната поларна гранка.



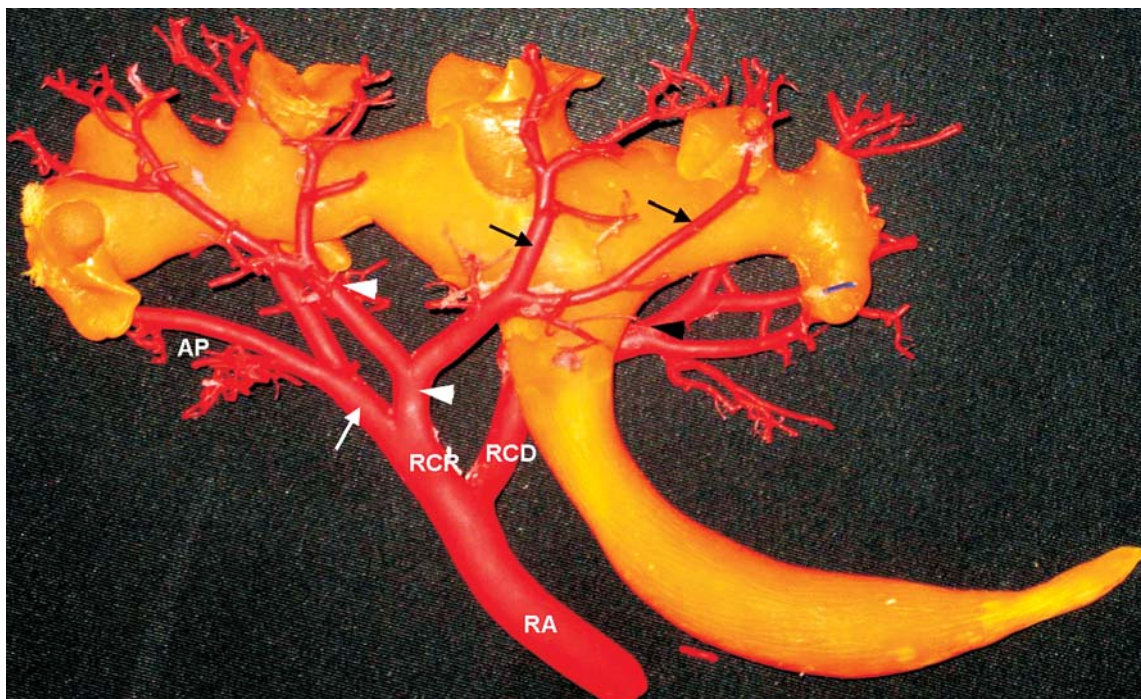
Слика 2. Дорзална површина на карлично-чашкен систем и артерии од десен бубрег на свиња. Артериски тип Iа. Бубрежната артерија (AR) се дели на кранијална поларна гранка (RCR) и каудална поларна гранка (RCD), приближно еднакви по должина артериски крвни садови кои во половите на бубрегот ги даваат дорзалните сегментални артерии (бели стрелки) и вентралните сегментални артерии (црни стрелки).

Во типот Iб, кранијалната поларна гранка (ramus cranialis) е кратка артерија (неколку mm) која непосредно после нејзиното одделување од a.renalis, во бубрежниот хилус ги дава дорзалната и вентралната сегментална артерија (a.segmenti cranialis dorsalis et a.segmenti cranialis ventralis) за кранијалниот пол на бубрегот (слика 3). Каудалната поларна гранка (ramus caudalis) има идентично разгранување како во типот Iа.

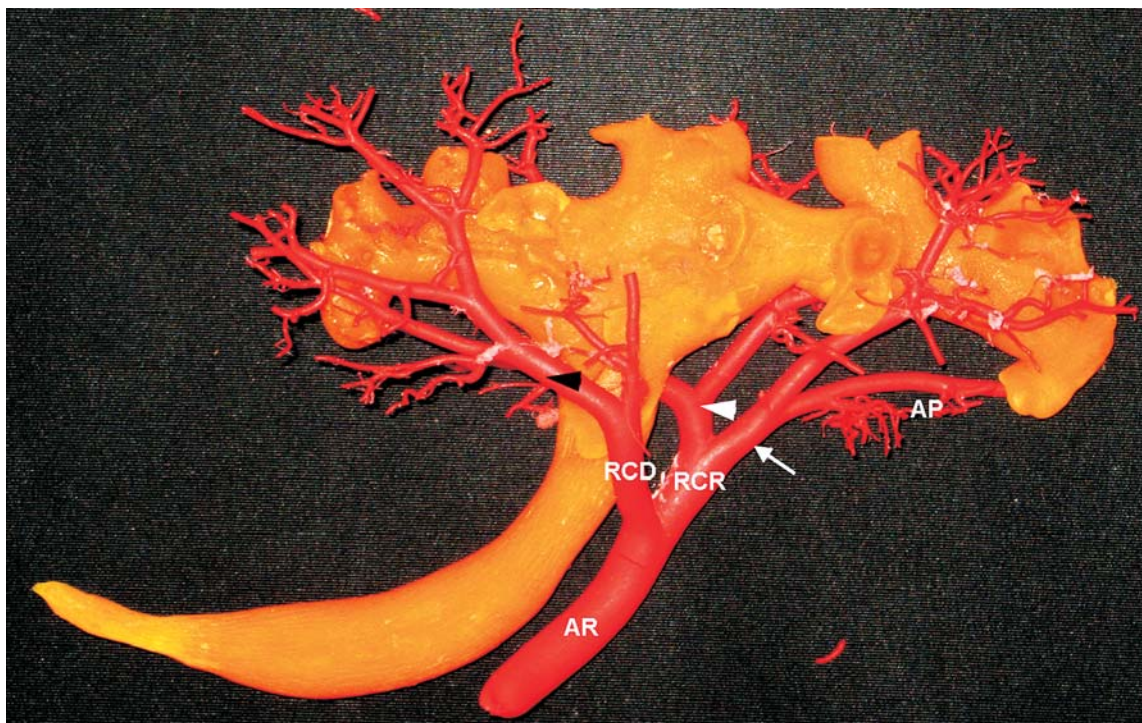


Слика 3. Вентрална површина на карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. Артериски тип Iб. Бубрежната артерија (AR) ја дава кранијалната поларна гранка (RCR), кратка артерија (неколку mm) која во бубрежниот хилус ги дава дорзалната сегментална артерија (бела стрелка) и вентралната сегментална артерија (црна стрелка). Од вентралната сегментална артерија излегува апикална артерија (a.apicalis) (куса бела стрелка). Каудалната поларна гранка (RCD) се разгранува во каудалниот пол на бубрегот.

Кранијалната поларна гранка (ramus cranialis) во *подишој Ис*, покрај кранијалните сегментални артерии (a.segmenti cranialis dorsalis и a.segmenti caudalis ventralis) дава уште една дополнителна гранка. Оваа артерија излегува од ramus cranialis на местото каде се одделуваат сегменталните артерии за кранијалниот пол на бубрегот, но често излегува и во заедничко стебло со дорзалната сегментална кранијална артерија. После настанокот, се движи во каудолатерална насока преку дорзалната површина на бубрежната карлица и доспева до дорзалната површина на каудалниот пол чија површина ја васкуларизира. Станува збор за артерија која според регионот на васкуларизација е замена на a.segmenti caudalis dorsalis. (слика 4 и 5) Кај ваквиот тип на разгранување, вентралната површина од каудалниот пол е васкуларизиран од каудалната вентрална сегментална артерија (a.segmenti caudalis ventralis) која е продолжеток на каудалната гранка на a.renalis.

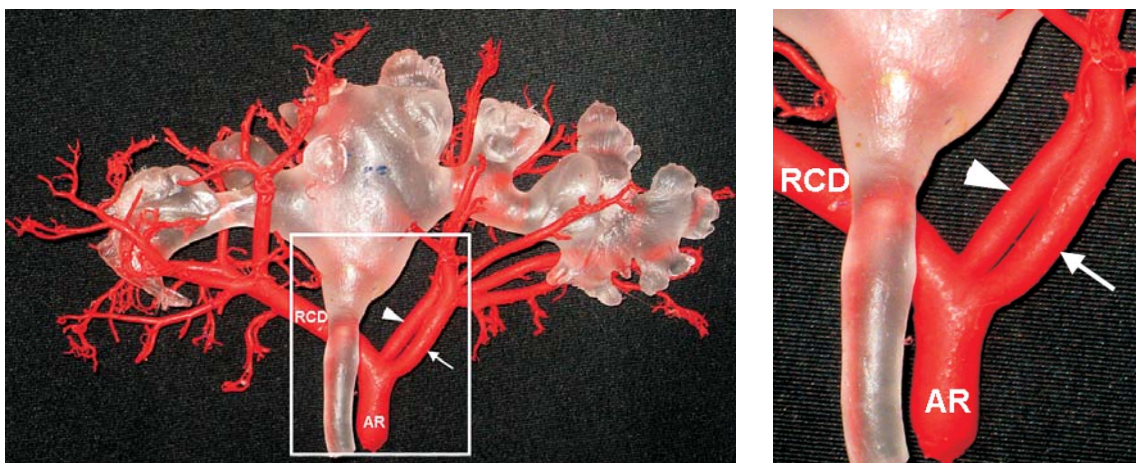


Слика 4. Дорзална површина на карлично-чашкен систем и артерии од десен бубрег на свиња. *Артериски подишој Ис*. Од бубрежната артерија (AR) излегува кранијалната поларна гранка (RCR) која потоа во кранијалниот пол ги дава кранијалната дорзална сегментална артерија (куса бела стрелка) и кранијалната вентралната сегментална артерија (бела стрелка). Дорзалната сегментална артерија дава дополнителна гранка (црни стрелки) за каудалниот пол на бубрегот. Од вентралната сегментална артерија излегува апикална артерија (a.apicalis) (AP). Каудалната поларна гранка (RCD) ја дава вентралната сегментална артерија (куса црна стрелка) за вентралната површина на каудалниот пол.

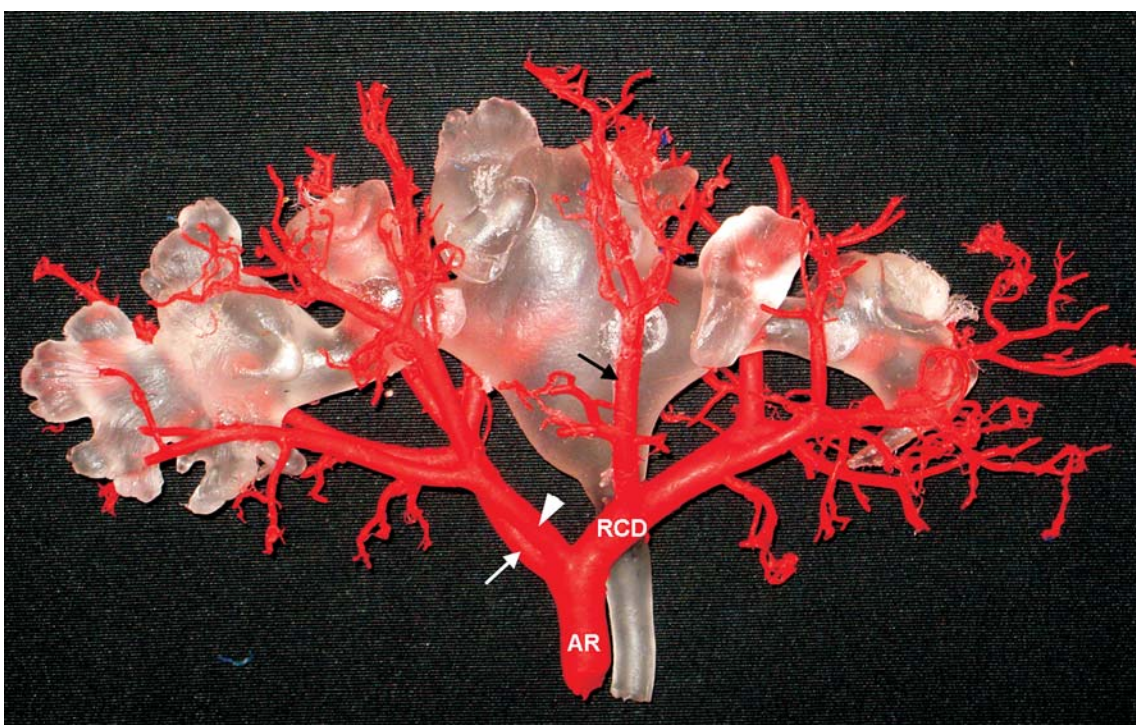


Слика 5. Вентрална површина на карлично-чашкен систем и артерии од десен бубрег на свиња. *Артериски тип Ic.* Вентралната површина од каудалниот пол е васкуларизиран од каудалната вентрална сегментална артерија (куса црна стрелка) која е продолжеток на каудалната поларна гранка (RCD) од a.genalis (AR). Кранијалната поларна гранка (RCR) ги дава кранијалната дорзална сегментална артерија (кратка бела стрелка) и кранијалната вентрална сегментална артерија (бела стрелка) за кранијалниот пол на бубрегот. Од вентралната сегментална артерија излегува апикална артерија (a.apicalis) (AP).

Кај бубрезите од **типот II** постојат две : Продолжетокот од a.genalis ја формира
долги артерии кои одвоено излегуваат од : каудалната гранка (ramus caudalis) која слично
a.genalis, најчесто во хилусот на бубрегот и : како во типот I(a-b) се дели на дорзална и
преку бубрежниот синус се движат кон : вентрална сегментална каудална артерија
дорзалната и вентралната површина на : (a.segmenti dorsalis caudalis et a.segmenti ventralis
кранијалниот пол. Овие артерии според : caudalis) и го васкуларизира каудалниот пол
васкуларната поставеност и регионот на : на бубрегот. (слика 6 и 7) Ваков тип на
васкуларизација кој го опфаќаат се : разгранување пронајдовме во 14.51% кај
дорзалната и вентралната кранијална : *ландрас/јоркшир* и во 6.39% кај *далланд.*
сегментална артерија (a.segmenti cranialis : (p>0.05)
dorsalis et a.segmenti cranialis ventralis). :



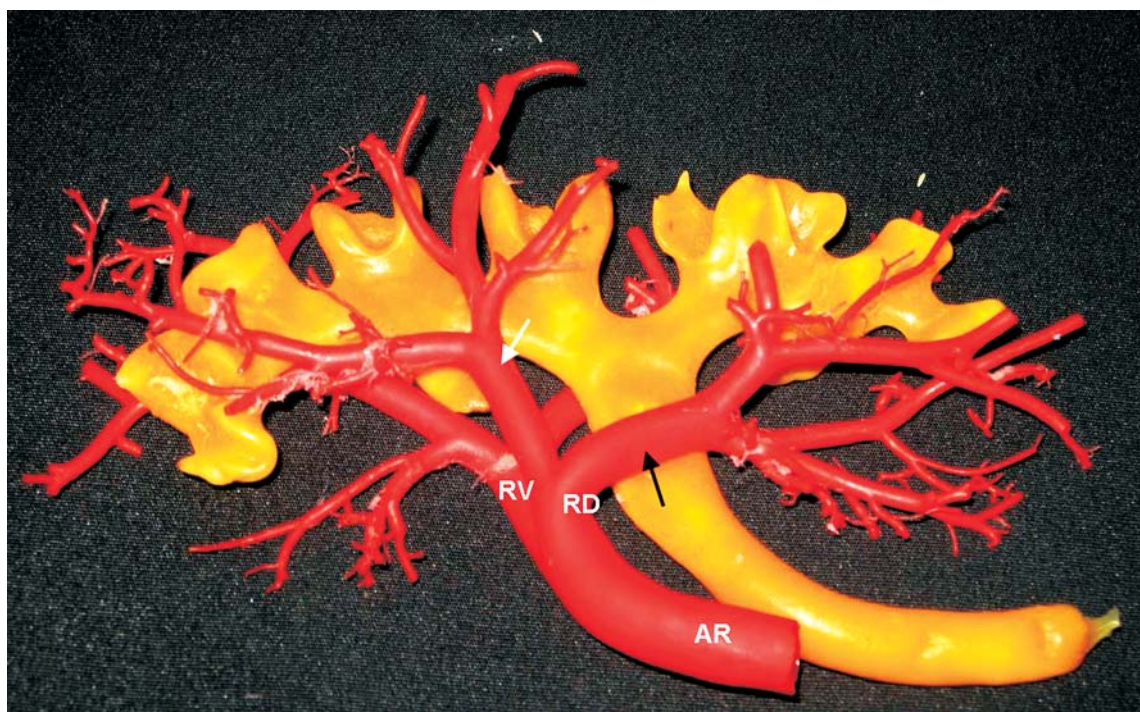
Слика 6. Дорзална површина на карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. *Артериски иiii II.* Дорзалната сегментална артерија (бела стрелка) и вентралната сегментална артерија (бела куса стрелка) излегуваат одвоено од a.renalis (AR) и се насочуваат кон дорзалната и вентралната површина на кранијалниот пол. Продолжетокот од a.renalis ја формира каудалната поларна гранка (RCD) која го васкуларизира каудалниот пол на бубрегот.



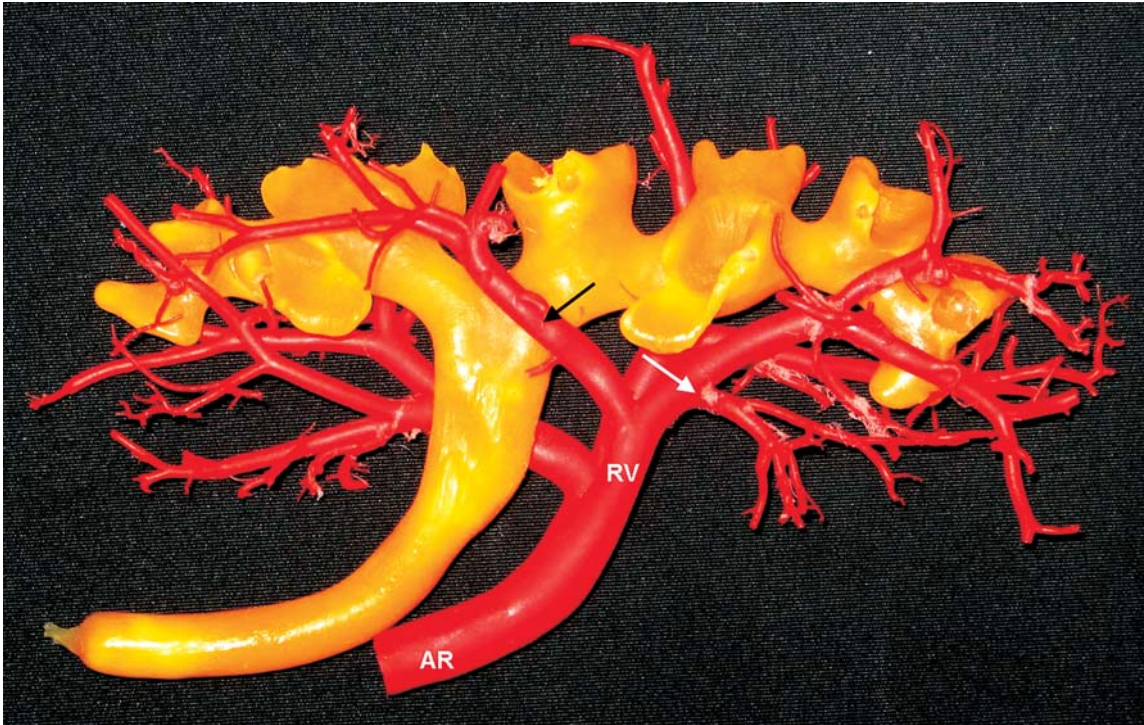
Слика 7. Вентрална површина карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. *Артериски иiii II.* Дорзалната сегментална артерија (бела стрелка) и вентралната сегментална артерија (бела куса стрелка) излегуваат директно од a.renalis (AR) и потоа се насочуваат кон дорзалната и вентралната површина на кранијалниот пол. Продолжетокот од a.renalis ја формира каудалната поларна гранка (RCD) која го васкуларизира каудалниот пол на бубрегот. Од каудалната поларна гранка излегува артериска гранка (a.ventrocalicis) која се движи хоризонтално по вентралната површина на средишниот дел од бубрежната карлица (црна стрелка).

Различно од предходните два типа, во типот III, a. renalis се дели на дорзална (ramus dorsalis) и вентрална гранка (ramus ventralis) кои доспеваат до дорзалната односно вентралната површина на хилусот од бубрегот. Дорзалната гранка ја васкуларизира целосно дорзалната површина на бубрегот. Дава две сегментални артерии од кои едната ја васкуларизира дорзалната површина на кранијалниот пол (a. segmenti cranialis dorsalis) додека другата артерија ја васкуларизира дорзалната површина на каудалниот пол (a. segmenti caudalis dorsalis). Вентралната површина на бубрегот е

· васкуларизирана од вентралната гранка
· (ramus ventralis) на a. renalis која преку
· вентралната сегментална кранијална артерија
· (a. segmenti cranialis ventralis) ја носи крвта во
· вентралната површина на кранијалниот пол
· како и вентралната каудална сегментална
· артерија (a. segmenti caudalis ventralis) која ја
· крвоснабдува вентралната површина на
· каудалниот пол. (слика 8 и 9). Бубрези кои
· имаат ваков тип на артериски системи
· утврдени се во 6.46% кај расата *ландрас*/
· *јоркшир* и во 10.64% кај расата *далланд*.
· ($p > 0.05$)



Слика 8. Дорзална површина на карлично-чашкен систем и артерии од десен бубрег на свиња. Артериски тип III. Бубрежната артерија (AR) се дели на дорзална гранка (RD) и вентрална гранка (RV). Дорзалната гранка ја дава дорзалната сегментална артерија за кранијалниот пол (бела стрелка) и дорзалната сегментална артерија за каудалниот пол (црна стрелка).



Слика 9. Вентрална површина на карлично-чашкен систем и артерии од десен бубрег на свиња. *Артериски тип III*. Вентралната гранка(RV) на бубрежната артерија(AR) ги дава вентралната сегментална артерија за кранијалниот пол(бела стрелка) и вентралната сегментална артерија за каудалниот пол (црни стрелки) .

Покрај наведените артерии, во кранијалниот пол на бубрезите постои артериски крвен сад кој излегува од местото каде дорзалните и вентралните сегментални артерии се одделуваат од кранијалната поларна гранка(тип I) како и од почетниот дел на дорзалната односно почетниот дел на вентралната сегментална гранка(тип I, II, III). Станува збор за апикална сегментална артерија(a.apicalis) која се движи кон најоддалечената точка на кранијалниот пол на бубрегот . (слика 3, 4, 5, 10).

Исто така, во средишниот дел од дорзалната и/или од вентралната површина на хилусниот дел од бубрегот каде се наоѓа бубрежната карлица кај корозивните препарати утврдени се крвни садови кои

излегуваат од кранијалната и/или каудалната поларна гранка на a.genalis. Станува збор за терминални (сегментални) артерии кои според регионот на васкуларизација се именувани како: a. dorsopyelica односно a. ventropyelica. (слика 10, 11)

Кај сите испитани корозивни препарати, помеѓу сегменталните артерии не постојат анастомози. Сегменталните артерии претставуваат терминални крвни садови кои васкуларизираат точно определен регион односно сегмент од бубрегот. Во вака изградената артериска мрежа на свинскиот бубрег постои јасна одвоеност на васкуларизацијата во кранијалната и каудалната половина од бубрегот.

ДИСКУСИЈА

Резултатите во оваа студија покажаа дека секој бубрег кај испитуваните раси на свињи добива една бубрежна артерија (*a.renalis*) која има висок прдиктивен начин на разгранување. Бубрежната артерија се дели на кранијална и каудална гранка односно дорзална и вен-трална гранка. Овој наод се совпаѓа со публицирните литературните податоци (14, 30, 35). Различно од бубрезите кај свиња, во бубрезите кај луѓето и кај некои други цицачи утврдени се мултипни (акцесорни) или уште познати како аберентни бубрежни артерии кои се посебни гранки кои влегуваат засебно и директно во паренхимот на бубрегот притоа беза да навлезат во хилусот на бубрегот (7, 23, 29, 32).

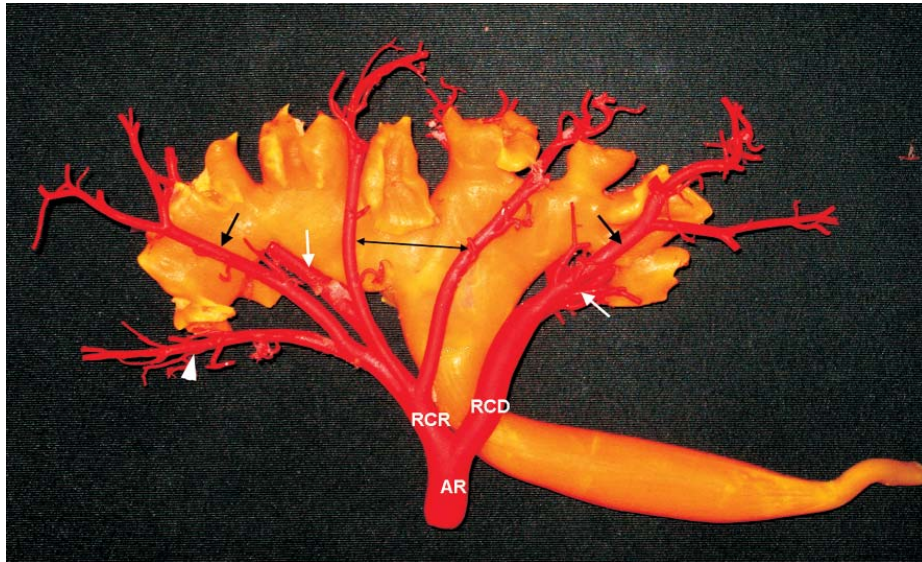
Појавата на мултипните (прекубројни) артерии во клиничката пракса е важно, бидејќи секоја акцесорна артерија е терминален крвен сад и нејзина повреда предизвикува сегментална исхемија на бубрегот пропратена со системска хипертензија (2). Во случај каде повеќебројните артерии влегуваат во бубрегот преку неговиот хилус може да дојде до компресија на уретерот и до отежнато истекување на урината што води кон дилатација на бубрежната карлица и бубрежните чашки односно хидронефроза (29). Присуството на мултипни бубрежни артерии, посебно се важни во клиничката трансплантација бидејќи често пати нивното присуство не може да се предвиди и предизвикува компликации за време на хируршката интревенција. Наодот од оваа студија, дека во свинскиот бубрег не постојат акцесорни (мултипни) бубрежни артерии како и артерии кои екстрахиларно навлегуваат во бубрежниот паренхим преставува важна информација за клиничарите-уролози доколку свинските бубрези се употребуваат во експерименталната васкуларна хирургија.

Разгранувањето на *a.renalis* во бубрежниот паренхим прикажан во оваа студија покажа дека дистрибуцијата на сегменталните артерии во свинските бубрези може да се следи што е клучно за нивна примена во експерименталната медицина.

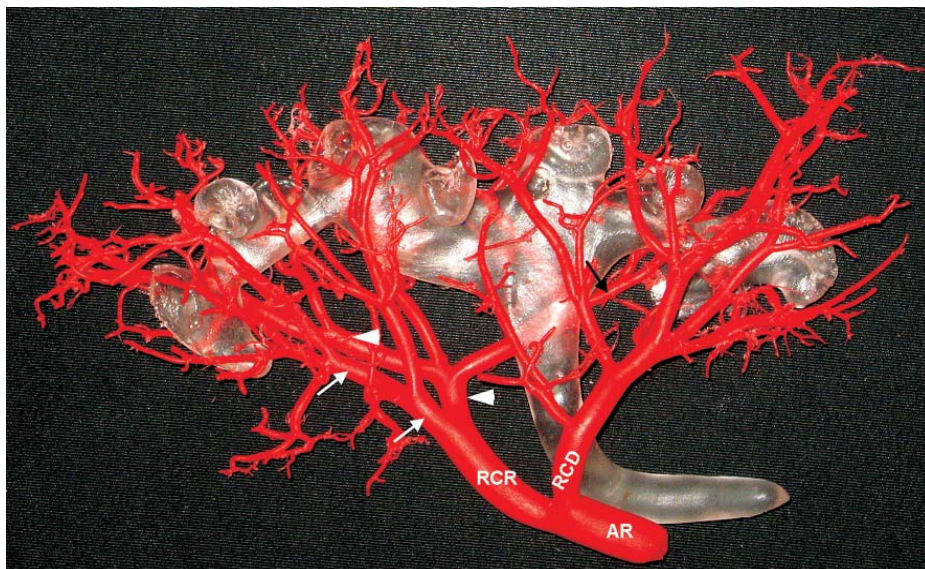
Воденичаров А. (1987) утврдил е дека во 70% *a.renalis* има т.н дихотомен тип на поделба и се разгранува на кранијална и каудална гранка односно дорзална и вен-трална гранка

додека во останатите 30% постои т.н дисеминиран тип во кој бубрежната артерија се дели на три гранки од кои две се кранијални и една каудална (35). Ваквите наоди не ја прикажуваат васкуларната поставеност на завршните гранки на *a.renalis* во зависност од положбата на телото како што е тоа прикажано во нашите наоди што преставува важен индикатор доколку свинските бубрези се употребуваат во клиничката ксено-трансплантација. Во оваа студија утврдено е дека кај бубрезите кои имаат сагитална поставеност на примарните гранки (93.54% кај расата *ландрас/јоркшир* и во 89.36% кај расата *далланд*) бубрежната артерија се дели на кранијална и каудална гранка додека кај бубрезите каде *a.renalis* се дели на дорзална и вен-трална гранка (6.46% кај расата *ландрас/јоркшир*, и 10.64% кај расата *далланд*) постои трансверзална васкуларната поставеност на примарните гранки на бубрежната артерија. Наодите се во коализија со студијата во која компартивно се анализирали органските системи кај свиња и човек, и каде се потврдува дека кај свињата васкуларната поставеност на артериите во бубрезите е лонгитудинална додека кај луѓето е трансверзална (33). Исто така резултатите и процентуално се совпаѓаат со наодите на Samraio M.A et al. (2004) кои известуваат за примарна поделба на *a.renalis* на кранијална и каудална гранка во 93.4% односно на дорзална и вен-трална гранка во 6.6% (30).

Класификацијата на сегменталните артерии кај свињи, во медицинската литература, се заснова врз пртходно утврдента класификацијата опишана кај неколку видови на животни и луѓето. Имено, кај луѓето *a.renalis* најчесто се дели на anteriorna и posteriorna поларна гранка (13,14,16,19,24). Слично разгранување постои и кај некои животни каде најчесто бубрежната артерија се дели на дорзална и вен-трална гранка (3-6, 20, 21). Во бубрезите кај луѓето, секоја поларна артерија во бубрежниот хилус се разгранува на сегментални артерии кои се терминални артерии (19). Кај кучето и глушецот (17), лисицата и мечката (20), дорзалната и вен-тралната гранка на *a.renalis* исто така се делат на сегментални артериски гранки кои се слични на сегменталните артерии кај свињата но помеѓу нив постојат анастомози поради одсуството на мултипни медуларни пирамиди. Кај свињата, која има бубрег со



Слика 10. Вентрална површина (на карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. *Артериски илустрација 1b*. Од бубрежната артерија (AR) излегува кранијалната поларна гранка (RCR) која ја дава кранијалната дорзална сегментална артерија (бела стрелка) и кранијалната вентралната сегментална артерија (црна стрелка). Од кранијалната поларна артерија излегува апикална артерија (a.apicalis) (кратка бела стрелка). Пред да се подели на сегменталните артерии, од кранијалната поларна гранка излегуваат две артерии (двојна црна стрелка) кои се движат во латерална насока, хоризонтално по вентралната површина на бубрежната карлица. Каудалната поларна артерија (RCD) го васкуларизира каудалниот пол на бубрегот со каудалната дорзална сегментална артерија (бела стрелка) и каудалната вентралната сегментална артерија (црна стрелка).



Слика 11. Вентрална површина на карлично-чашкен систем и артерии од лев бубрег на свиња. *Артериски илустрација 1c*. Од бубрежната артерија (AR) излегува кранијалната поларна гранка (RCR) која ја дава кранијалната дорзална сегментална артерија (кратка бела стрелка) и кранијалната вентрална сегментална артерија (бела стрелка). Од каудалната поларна артерија излегуваат две артерии кои се движат во латерална насока, хоризонтално по вентралната површина на бубрежната карлица (двојна црна стрелка). Каудалната поларна артерија (RCD) ја васкуларизира вентралната површина на каудалниот пол на бубрегот. Дорзалната површина на каудалниот пол е васкуларизирана од крвен сад (црна стрелка) кој потекнува од дорзалната сегментална артерија на кранијалната поларна гранка.

мултипапиларна архитектура со присуство на бројни мали и големи бубрежни чашки, секој крвен сад васкуларизира строго определен регион од бубергот (15) што и се потврдува во резултатите на оваа студија.

Што се однесува до дистрибуцијата на артериите во бубрег кај свиња најголем придонес дале Evan et al.(1996) кои први известуваат за постоење на регионална поделба на свинскиот бубрегот која се темели на сегменталните артерии (15). Овие крвни садови авторите ги именувале според номенклатурата која вообичаено се користи за крвните садови во хуманата медицина. Така *a.renalis* се дели на супериорна и инфериорна поларна гранка кои потоа во половите на бубрегот се делат на антериорни и постериорни сегментални артерии. Бидејќи во *Nomina Anatomica Vetrinaria*, се уште не е усвоена номенклатура за сегменталните артерии во свински бубрези, во оваа студија применета е номенклатура која се базира на постоечката во хуманата медицина но е адаптирана на ветеринарната медицина. Во нашите наоди кај разгранувањето во артерискиот тип I утврдивме кранијална поларна гранка(*ramus cranialis*) и каудална поларна гранка(*ramus caudalis*) кои во половите на бубрегот ги даваат венстралните сегментални артерии за кранијалниот и каудалниот пол (*aa.segmentales craniales et caudales ventrales*) како и дорзалните сегментални артерии за кранијалниот и каудалниот пол(*aa.segmentales craniales et caudales dorsales*). Типот I во нашите наоди е високо варијабилен и според начинот на разгранување на *a.renalis* има три подтипа (a,b,c) кои детално се елаборирани во одделот резултати. Кај вториот тип на разгранување (тип II) дорзалната и венстралната сегментална кранијална артерија излегуваат одвоено од *a.renalis*. Ваков васкуларен тип е констатиран и од други истражувачи(15, 30, 35). Типот III во нашата студија е единствениот кој слично на човечкиот бубрег има трансверзална поставеност на примарните завршни поларни артерии. Кај овој тип постои васкуларна поделност на две лонгитудинални половини на бубрегот од кои едната е дорзална и е васкуларизирана од дорзалната кранијална и каудална сегментална артерија на дорзалната гранка (*ramus dorsalis*) додека другата половина е венстрална и е васкуларизирана од венстралната

кранијална и каудална сегментална артерија од венстралната гранка (*ramus ventralis*).

Исто така, во артериските системи од бубрезите кај испитуваните раси утврден е артериски крвен сад кој излегува од местото каде што дорзалните и венстралните сегментални артерии се одделуваат од кранијалната поларна гранка(тип I) како и од почетниот дел на дорзалната односно почетниот дел на венстралната сегментална гранка(тип I, II, III). Станува збор за апикална сегментална артерија (*a.apicalis*) која се протега кон најодалечената точка на кранијалниот пол на бубрегот. Апикална сегментална артерија во бубрегот на човек, слично како во свинскиот бубрег, има различно потекло и вообичаено излегува или од антериорната или од постериорната артерија или директно од бубрежната артерија и екстрахиларно навлегува во бубрежниот паренхим (19,29, 30).

И во средишниот дел од дорзалната и/или од венстралната површина на хилусниот дел од свинскиот бубрег каде е сместена бубрежната карлица утврдени се крвни садови кои излегуваат од кранијалната и/или каудалната поларна гранка на *a.renalis*. Овие артерии според нашите анализи се терминални (сегментални) крвни садови кои завршуваат во наведените региони на бубрегот. Именувани се како: *a.dorsopyelica* односно *a.ventropyelica*. Овие артерии се утврдени и од останатите истражувачи(30, 35), со таа разлика што ние правиме обид за нивно именување воспоставувајќи анатомски термини кои се засноваат на нивната топографска позиција и васкуларен регион што го опфаќаат.

Споредбено, помеѓу испитуваните раси не пронајдовме сигнификантна разлика во процентуалната застапеност на различните типови на васкуларни артериски системи. Според тоа можеме да заклучиме дека во свински бубрези бубрежната артерија се дели на две примарни гранки кои потоа даваат различен број на секундарни сегментални артерии кои се дистрибуираат во бубрежниот паренхим. Ваквата васкуларна поставеност на артериите во свинскиот бубрег овозможуваат крвоснабдувањето да е поделено на региони и е предуслов за примена на бескрвна сегментална ресекција на органот и негова употреба во клиничката експериментална медицина.

ANATOMICAL CLASSIFICATION OF THE SEGMENTAL ARTERIAL BRANCHES ON THE RENAL ARTERY IN PIG KIDNEYS

Pendovski Lazo, Ilieski Vlatko,
Petkov Vladimir, Popovska-Percinic Florina

Department of Functional Morphology, Faculty of Veterinary Medicine-Skopje
e-mail: lpendovski@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

The aim of this article is to present a classification of pig kidneys segmental arterial system based of the distribution on the segmental arteries inside the renal parenchyma.

A total of 109 pig kidneys taken form two adult breeds (62 kidneys form hybrid breed landrace/yorkshire and 47 kidneys form hybrid breed dallnad) sslaughtered at age of 5 months and weigning of 95 kg (mean) were investigated. The anatomy of arterial vessels was studied on three-dimensional silicone S10 corrosion casts prepared together with the kidney collecting system.

There was one artery per kidney in all investigated specimens that primary branched into two arteries, one cranial and the one caudal branch in a 93.54% in a hybrid breed landrace/yorkshire and in the 89.36% hybrid breed dallnad. In the rest of 6.46% hybrid breed landrace/yorkshire and 10.64% hybrid breed dallnad the renal artery was branched into one dorsal and one ventral primary branch.($p>0.05$) According the way of witch the secondary segmental arteries were branching, the regions of their visualisation as well their position inside the renal parenchyma, three different arterial systems were classified as: type I(79.03% landrace/yorkshire vs. 82.97% dallnad) witch was wery variable and can be found in three subtypes(Ia, b, c), type II (14.51% landrace/yorkshire vs. 6.39% dallnad) and type III(6.46% landrace/yorkshire vs. 10.64% dallnad) ($p>0.05$).

According the results, the vascular positions of segmental arteries in pig kidneys allow blood supply inside in kidnes to be divided into separate regions witch is necessary condition for segmental resection of kidneys during vascular partial nephrectomy as well for their use in clinical experimental medicine.

Key words: pig kidneys, renal artery, segmental arteries, corrosion casts, classification

ЛИТЕРАТУРА

1. Anonymous (2005): Nomina Anatomica Vetreinaria. International committee on veterinary Gross anatomical Nomenclature, Hanover, Columbia Gent, Sapporo,
2. Andersson I., Boijesen E., Hellsten S., Linell F. (1979) Lesions of the dorsal renal artery in surgery of renal pelvic calculus; a potential cause of renovascular hypertension. *Eur Urol*; 5: 343-346
3. Arnautovic I. (1959) The distribution of the renal artery of the dog. *British Veterinary Journal* 115-466
4. Arnautovic I. (1962) Grananje arterijalnog sistema u bubrezima domacih zivotinja. *Bioloski Glasnik*.15:55-88

5. Arnautovic I., Bevandic M. (1964) Prilog nomenklaturu arterijalnog sistema bubrega domacih zivotinja. *Veterinaria* 13:389-396
6. Aslan K., Nazli M. (2001): A comparative macro-anatomic investigation on the intrarenal segmentation of the renal artery in goats and Morkaraman sheep. *Indian Veterinary Journal*, 78, 139–143.
7. Aydin C., Bereber I., Altaca G., Yigit B., Titiz I. (2004) The outcome of kidney transplants with multiple renal arteries. *BMS Surgery* 4: 1-3
8. Benoit G., Dalmas BV., Gillot., Hureau. (1984)Anatomical bases of kidney transplantation in man. *Anat Clin.*; 6(4): 239-245
9. Boyce WH. (1983) Nephroliythotomy in Urologic Surgery. 3rd edition. Edited by J.F.

- Glenn. Philadelphia. JB. Lippincot Co, chapt.16; 183-194
10. Breimer ME., Bjorck S., Svalander CT. (1996) Extracorporeal (ex vivo) connection of pig kidneys to humans. Clinical data and studies of platelets destruction. *Xenotransplantation*; 3:328
11. Bucher P.; Morel P.; Buhler L. (2005) Xenotransplantation: an update on recent progress and future perspectives. *Transparent international* 18:894-901
12. Cascalho M., Ogle BM., Platt JL. (2004) Xenotransplantation and the future renal replacement. *J Am Soc Nephrol*; 15:1106-1112
13. Cordier G., Nguyen-Huu., Bui-Mong H. (1963) Arterial segmentation of kidney. *Press medical* 72: 2433-2438
14. Di Dio LJA. (1970) Urinary system in synopsis anatomy. The C.V. Mosby Co. Saint Louis. st Edition; 276-286
15. Evan A.P., Connors B.A., Lingeman J.E., Blomgren P., Willis L.R. (1996): Branching patterns of the renal artery of the pig. *Anatomical Record*, 246, 217-223.
16. Fine H; Keen, E.N. (1966) The arteries of the human kidney. *Journal of anatomy*; 100: 881-894
17. Fourman J., Moffat D. (1971) The blood vessels of the kidney Oxford: Blackwell Scientific Publication
18. Fuller P.M., Huelke D.F. (1973): Kidney vascular supply in the rat, cat and dog. *Acta Anatomica*, 84, 516-522.
19. Graves FT. (1954) The anatomy of the intrarenal arteries and its application to segmental resection of the kidney. *British Journal of Surgery*, 42:132-139
20. Hadziselimovic H., Cus M. (1975): Blood vessels and excretory apparatus of the kidney in some wild animals. *Acta Anatomica*, 91, 71-82.
21. Horacek M.J., Earle A.M., Gilmore J.P. (1987): The renal vascular system of the monkey: A gross anatomical description. *Journal of Anatomy*, 153, 123-137.
22. Jain R.K., Singh Y. (1987): Vascularization of kidneys in bovine calves. *Indian Veterinary Journal*, 64, 1059- 1062.
23. Khamanarong K., Prachaney P., Utraravichien A., Tong-un T., Sriporaya K. (2004) Anatomy of renal arterial supply. *Clinical Anatomy*, 17:334-336
24. Longia GS., Kumar V. , Saxena SK., Gupta. CD. (1982) Surface projection of arterial segments in the human kidney. *Acta anatomica* 113:145-150
25. Marlon F.L. (2000) Animal organs for human transplantation: How close are we? *BUMC proceedings*; 13:3-6 *BJU International*. 2003; 92: 607-609
26. Marais J. (1988): Microvasculature of the feline renal medulla. *Acta Anatomica*, 133, 86-88.
27. Nerantsiz C., Antonakis E., Avgastakis D. (1978): A new corrosion casting technique. *Anatomical Record*, 191, 321-325.
28. Reis R.H., Tepe P. (1956): Variations in the pattern of renal vessels and their relation to the type posterior vena cava in the dog (*Canis familiaris*). *The American Journal of Anatomy*, 99, 1-15.
29. Sampaio FJB., Schiavaini J.L; Favoritio L.A. (1993) Proportional analysis of the kidney arterial segments. *Urol Res*; 21:371-374
30. Sampaio FJB., Favorito LA., Pereira-Sampaio MA. (2004) Pig kidney: Anatomical relationships between the intrarenal arteries and the kidney collecting system. Applied study for the urological research and surgical training. *Journal of Urology* 172: 2007-2081
31. Sindel M., Ucar Y., Ozkan, O. (1990): Renal arterial system of the domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Corrosion cast study. *Journal of Anatomical Society India*, 39, 31-40.
32. Satypal KS., Haffejee AA., Singh B., Ramsaroop L., Rabbs JV., Kaliden JM(2001). Additional renal arteries: incidence and morphometry. *Surg Radiol Anat*, 23:33-38
33. Swindle M. (2002) Comparative anatomy of the pig. *SRC*; 1:1-3
34. Tompset D.H. (1970): *Anatomical Techniques*. 2nd ed. E. and S. Livingstone, Edinburg and London.
35. Vodenicarov A., Danchev S., Vodenicarova I. (1987) Arterial vessels of the kidney in domestic swine. *Vet Med Nauki.*; 24:70-77



ВЛИЈАНИЕТО НА ФЛУИДНАТА ТЕРАПИЈА ЗА СТАБИЛИЗАЦИЈА НА КУЧИЊА ВО СОСТОЈБА НА ШОК (приказ на случај)

Новаков Тодор¹, Тројачанец Пламен², Матијатко Весна³,
Велев Ромел¹, Јуркич Габријела³, Илиевска Ксенија²

¹ Катедре по фармакологија и токсикологија, Факултет за Ветеринарна медицина - Скопје,

² Катедре по хирургија, ортопедија и офталмологија, Факултет за Ветеринарна медицина - Скопје,

³ Клиника за внатрешни болести кај мали животни, Ветеринарски факултет - Загреб,

e-mail: todornovakov@fvm.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Целта на овој труд е приказ на сликата на шокоот во малата пракса и негово адекватно и правовремено третирање. Со ова истражување се офајдени вкупно 8 кучиња, означени со броевите од 1 до 8. На сите животни е спроведено општо клиничко пребарување, поставен е венски пат и следени се клиничките параметри во текот на терапирањето. Со ова истражување се покажа дека сите прифатени животни се наоѓале во состојба на шок. Сите пациенти примија флуидна терапија за да го надолнаат и одржат изгубениот волумен, со исклучок на пациентот со број еден, којшто со оглед на дијагнозата и класификацијата на шокоот бил подложен на друга терапија. Сите пациенти примија флуидна терапија во облик на еднократен или повеќекратен болус од колоиден раствор Hydroxyethyl Starch-a 6% (HAES) во доза од 3 до 15 мл/кг, со физиолошки раствор во доза од 10 до 50 мл/кг. Со нашето истражување се покажа позитивен ефект од примената на HAES и физиолошки раствор. По терапијата, кај кучињата со број 1, 2, 5 и 6 согледаваме стабилизација на телесната температура (Т.Т.), CRT и фреквенцијата на пулсот. Најрелевантен пример преиспитува кучето под реден број 2, кое е примено со Т.Т. 40.9, CRT 4 секунди, и фреквенција на пулсот од 222. По временски интервал од 18 часа согледаваме значајна промена на овие вредности: Т.Т. 38.4, CRT 3 секунди и фреквенција на пулсот од 180 опчукувања во минути. Кучињата под реден број 5, 6 позитивно реагираа на шокоот за стабилизација на состојбата на шок. Кучињата 3, 4, 7 и 8 иницијално позитивно реагираа во некои параметри, меѓутоа етиолошката ситуација доведе до егзацеребација на состојбата и летална завршица. Заклучивме дека важна улога во успешноста на терапијата има времето на апликацијата во обидот за стабилизација на состојбата. Добри резултати се можни единствено доколку лечењето е спроведено правовремено и адекватно (комбинација на колоиди и кристалоиди). Основното нешто при терапирањето во состојба на шок е корекција на хиповолемијата со адекватна течност, аплицирана интравенски и во најбрзо можно време.

Клучни зборови: флуидна терапија, стабилизација, шок, куче

ВОВЕД

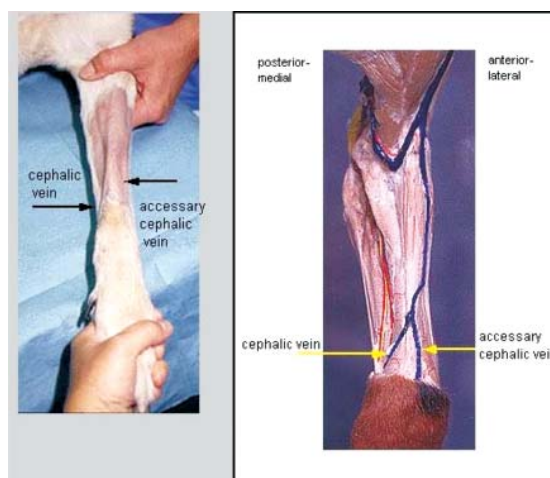
Шок е синдром кој се карактеризира со неколку клинички знаци, вклучувајќи алтерации во менталната состојба, боја на мукозни мембрани, CRT (на англ. capillary refill time, време на капиларно полнење), срцева фреквенција и квалитет на пулс (1). Недостатокот на течност во интраваскуларниот простор се нарекува шок и доколку тој недостаток брзо и адекватно не се коригира доаѓа до смрт на клетките, затајување на органите и угинување на пациентот (2).

Шокот претставува најчест синдром кој се сретнува во интензивната ветеринарна медицина, каде најважен услов за успешна терапија е брза реституција на изгубениот волумен. Неврохормоналниот одговор на слабиот срцев ударен волумен резултира со периферна вазоконстрикција и слаба ресорпција на течности кои се администрирани супкутано или интраперитонеално, затоа само интравенската апликација на флуидна терапија претставува адекватен избор во ситуација на шок (3).

Периферната венска катетеризација е едноставна, а најчесто користени вени кај кучиња се *V.Cephalica* и латералната *V.Saphena*. Во состојба на кардиоген шок може да се изврши катетеризација и на *V.Jugularis* со цел апликација на големо количество флуиди за брзо време. Кај пациенти под 2 кг телесна тежина и педијатриски пациенти доколку не може да се изврши интравенска апликација на флуидите, терапија е интраосеална (4).

Основата на флуидната терапија е во надополнувањето и одржувањето на изгубениот волумен и воспоставувањето на електролитен баланс кој е потребен за нормална функција на органите на пациентот. Примарната поддршка на циркулацијата при сите состојби на шок е флуидна терапија, исклучок прави кардиогениот шок (4).

Течностите кои се користат во интравенската флуидна терапија се класифицираат во три групи: кристалоиди, колоиди и полна крв со крвни продукти (3).



Слика 1: Приказ на вени за интравенска апликација кај кучињата

● **Кристалоидиџе** се група на флуиди кои содржат електролити на натриум и пуфери со мала молекулска маса. Тие навлегуваат во екстрацелуларниот простор и вршат регулација на телесниот флуиден баланс. Кај пациенти со нормална ренална функција, аплицираните кристалоиди брзо се излучуваат со урината. Тоницитетот на кристалоидните течности е во коорелација со концентрацијата на натриум. Кога концентрацијата на натриум во кристалоидните течности е иста со онаа во клетките на организмот станува збор за изотонични или физиолошки раствори. Аплицирањето на големи волумени на кристалоиди резултира со намалување на онкотскиот притисок при што се зголемува екстравазацијата на кристалоиди во интерстицијалниот простор. Затоа кристалоидните течности не го одржуваат интраваскуларниот волумен и не ја подобруваат ткивната перфузија кога се аплицираат засебно (5).

● **Колоидиџе** се група на флуиди кои содржат големи молекули и се дизајнирани да се задржат подолго време во интраваскуларниот простор. Тие доста ефикасно го зголемуваат и одржуваат васкуларниот волумен, па затоа се нарекуваат и плазма експандери. Колоидно онкотскиот притисок е важен за одржувањето на флуидниот баланс меѓу интраваскуларниот и интрастицијалниот простор. Примарниот извор на онкотскиот притисок во интраваскуларниот простор го

чинат албумините со молекулска маса од 69 KD кои обезбедуваат од 75% до 80% од вкупниот колоидно-онкотски притисок на плазмата. Колоидните раствори имаат слична или поголема молекулска маса од албумините со што учествуваат во одржување на колоидно-онкотскиот притисок. Тие се делат на биолошки (полна крв, албумини, плазма) и синтетски (декстрини, хидроксиетил скроб, pentastarch). Хидроксиетил скробот (син.: hetastarch; HAES) е создаден со хемиска модификација на амилопектинот и претставува јаглехидратна молекула слична на гликогенот (6).



Слика 2: Колоиден раствор (HAES)

● **Полна крв со крвни производни** се аплицираат при јаки крварења и губење на голем волумен крв кое што резултира со намалување во хематокритот т.е. PCV (на англ. packed cells volume), имено доколку хематокритот падне под 20% неопходна е трансфузија на полна крв (3). Во свежата полна крв се наоѓаат сите фактори за коагулација и активни тромбоцити. Како можни компликации при трансфузија можат да се јават имунолошки реакции (се користи алогенична крв), пад на калциумот (при брза надокнада) и развој на тумори (4).

Планот за флуидната реституција на пациент во состојба на шок вклучува неколку чекори: 1) одредување на местото на флуидниот дефицит 2) селекција на флуидна терапија специфична за секој пациент 3) детерминација на целната реституција и 4) детерминација на реституциската техника (7).

Не постои ефективна „стандардна“ формула за кристалоидна и/или колоидна инфузија која ќе гарантира комплетна реституција на интраваскуларниот волумен. Варијациите во соодносот на кристалоиди и колоиди зависат од реналната функција на пациентот, перзистенцијата на флуидите во "третата телесна шуплина", повреди на мозокот и белите дробови, срцеви заболувања и затајувања и различни видови хеморагии. Флуидната терапија мора да биде детално проценета за секој пациент засебно. Целната реституција се отчитува по префузиониот статус (срцева фреквенција, крвен притисок, централен венски притисок, боја на мукозни мембрани, CRT и квалитет на пулсот) (11).

Табела 1: Карактеристики на најчесто користените колоиди во интензивната мала пракса

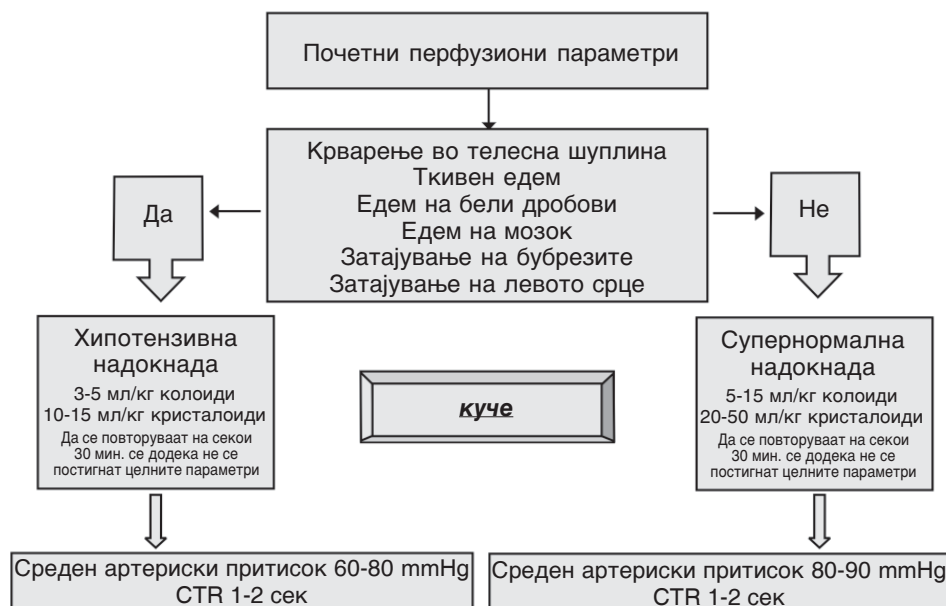
Колоид	Просечна мол. маса	Полуживој часа	Ph	Индикации
Dekstran 40	40 kD	3		хиповолемичен шок
Dekstran 70	70 kD	6	4,9	хиповолемичен шок
HAES 6%	200-450 kD	25,5	5,5	SIRS (Синдром на систематски воспалителен одговор), хипоалбуминемија, хиповолемичен шок

Постојат два вида на реституција: супранормална и хипотензивна. Супранормалната реституција за крајна точка го има нивото над нормалниот лимит, додека хипотензивната се применува за постигнување на крајни точки на реституција кои се под нормалниот лимит. Целта на хипотензивната реституција е да се администрира

ЦЕЛ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Целта на овој труд е приказ на ефикасноста на флуидната терапија за правовремено и соодветно лечење на состојбите на шок кај кучињата во малата пракса. Во едно целта е да се укаже на правилниот избор, дозата како и начинот на апликација на флуидите во

Графикон 1: Начин на надолупнување на флуиди кај куче во состојба на шок



најмалиот можен флуиден волумен кој ќе овозможи успешна реституција на интраваскуларниот волумен и ќе ја минимизира екстравазацијата на флуидите во интерстициумот (3).

Администрацијата на HAES како континуирана инфузија (constant rate infusion - CRI) овозможува перманентно снабдување со големи молекули со цел одржување на колоидно-онкотски притисок кај хипоалбуминемичните пациенти (8).

стабилизацијата на овие пациенти во состојба на шок.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Со ова истражување се опфатени вкупно 8 кучиња во состојба на шок од различна етиологија донесени во клиниката за мали животни на Ветеринарниот факултет во Загреб, Хрватска, означени со броеви од 1 до 8, чија раса, пол и возраст се прикажани во табелата 2.

Табела 2: Раса, пол и возраст на пациентите опфатени со истражувањето

	Пол	Возраст (месеци)	Раса
Куче 1	мажјак	96	Бернандинец
Куче 2	мажјак	60	Западно-шкотски териер
Куче 3	мажјак	180	Ротвајлер
Куче 4	женка	24	Рамновлакнест ретривер
Куче 5	мажјак	8	Боксер
Куче 6	мажјак	72	Германски овчар
Куче 7	мажјак	60	Староанглиски овчар
Куче 8	мажјак	24	Лабрадор ретривер

Кај сите испитувани животни пред почетокот на третманот е спроведен општ клинички преглед, по што се поставени интравенски канили (слика 3) и се пратени клиничките параметри во текот на терапирањето. Мерењето на одредени клинички параметри се изврши со апарат за таа намена (PM-9000 Vet Veterinary Portable Multi-Parameter Patient Monitor) на производителот Grady Medical Systems, Inc. од Temecula, Калифорнија, САД.

Терапијата на секој пациент е индивидуално одредена во зависност од состојбата и измерените клинички параметри кај пациентот, но во главно се користеше: како диуретик Furosemid, како хемотерапевтици Cefobid, Imizol, Vaytril, Penbritin, Trimetosul, Cefalotaksim, Ketocef, Augmentin и Lendacin, како блокатор на H₂ - хистаминските рецептори Peptran, како седативи Araurin, Dormicum, Нертанон, како кортикостероиди Solu Medrol, како централен антиеметик Torecan, како антиаритмик Lidokain, а од витамински препарати беше применуван Konakion и Biodyl во препорачаните дози.

Како флуидната терапија се користени комерцијални раствори за интравенска примена и тоа HAES-Steril 6%, физиолошки раствор Ringer и двата на производителот Braun Medical L.t.d. и физиолошкиот раствор NaCl 0.9% на производителот Pliva d.d.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

По извршениот општ клинички преглед и измерените клинички параметри, кај секој пациент утврдена е состојба на шок (табела 3) предизвикана од различна етиологија, по што беа подложени на флуидна терапија за надополнување на изгубениот волумен и друга симптоматска терапија. Исклучок е пациентот број 1 кај кој дијагностички и класификациски шокот се третира со диуретици без примена на флуидна терапија (кардиоген шок). Сите останати пациенти примаа флуидна терапија во облик на еднократен или повеќекратен болус на колоиден раствор на HAES во доза од 3 до 5 мл/кг заедно со кристалоиден физиолошки раствор (Ringer или NaCl) во доза од 10 до 50 мл/кг.



Слика 3: Венепункција на пациентите користени во истражувањето

Табела 3: Збирен приказ на видот на шок, дијагнозата, терапијата и исходот кај пациентите користени во истражувањето

Пациент	Вид шок	Метода на дијагностицирање	Конечна дијагноза	Флуидна терапија	Исход
1	кардиоген	рентгенска ултразвучна претрага	DCM (dilatative cardiomyopathy)	Furosemid 4 мг/кг, и/в	поволен
2	дистрибутивен	клинички параметри, биохемиски профил на крв	siriasis	HAES 3 мл/кг + Ringer 10 мл/кг	поволен
3	септичен	крвен размаз на периферна крв	babesiosis	HAES 2 мл/кг + Ringer 10 мл/кг	летален
4	дистрибутивен	рентгенска снимка, ултразвучна претрага	histiocitom fibros malign	HAES 3 мл/кг + Ringer 10 мл/кг, HAES 20 мл/кг/ден (CRI)	летален
5	хиповолемичен	клинички параметри, хематолошки статус	gastroetheritis haemorrhagica	HAES 3 мл/кг + Ringer 10 мл/кг, HAES 20 мл/кг/ден (CRI)	поволен
6	опструктивен	рентгенска снимка	volvulus intestini	HAES 3 мл/кг + Ringer 10 мл/кг, NaCl 40 мл/кг (CRI)	поволен
7	опструктивен	сондирање, рентгенска снимка	GDV(gastric dilataion et volvulus)	HAES 5 мл/кг + Ringer 15 мл/кг	летален
8	септичен	крвен размаз на периферна крв	babesiosis	HAES 3 мл/кг + Ringer 10 мл/кг, NaCl 40 мл/кг (CRI)	летален

По правовременото спроведување на флуидна терапија кај пациентите со број 2, 5 и 6 констатиран е поволен исход, за разлика од пациентите со број 3, 4, 7 и 8 каде и покрај спроведената терапија исходот беше летален. Кај пациентите под број 2, 5 и 6 по флуидната терапија е забележана стабилизација на телесната температура, CRT и фреквенцијата на пулсот. Најрелевантен пример за поволниот исход по флуидната терапија е пациентот со реден број 2 (табела 4) кај кој многу бргу (веќе по 12 часа) дојде до стабилизирање на горе споменатите параметри.

Табела 4: Движење на клиничките параметри кај пациентот број 2 по примената на флуидна терапија

Време	Температура	Пулс	Дишење	CRT
4:00	40.9	222	78	4.0 сек
4:30	40.1	220	70	3.0 сек
5:00	39.8	210	64	3.0 сек
6:00	39.4	210	58	>3.0 сек
7:00	38.7	200	54	>3.0 сек
8:00	38.0	200	54	>3.0 сек
8:45	37.5	200	48	>3.0 сек
9:45	38.4	180	42	3.0 сек
12:45	38.0	160	36	3.0 сек
15:00	37.8	160	36	2.0 сек
16:00	37.7	170	40	2.0 сек

Кај пациентот со број 5 поради дијагностицираната хипоалбуминемија беше потребно продолжување на терапијата со HAES во облик на континуирана инфузија. Кај овој пациент по повторената терапија забележано е намалување во варијацијата на телесната температура (табела 5).

Табела 5: Движење на клиничките параметри кај пациентот број 5 по примената на флуидна терапија

Ден	Време	Температура	Пулс	Дишење	CRT
1	10:00	37.0	/	/	< 1.0 сек
	11:00	38.6	/	/	1.0 сек
	12:00	37.6	/	/	< 1.0 сек
	13:00	37.3	/	/	1.0 сек
	17:00	37.1	/	/	< 1.0 сек
	18:00	37.6	/	/	< 1.0 сек
	23:00	37.2	/	/	1.0 сек
2	11:00	36.3	64	/	< 1.0 сек
	12:00	36.4	64	/	< 1.0 сек
	13:00	36.4	60	/	1.0 сек
	14:00	36.8	/	/	/
	15:00	36.6	/	/	/
	16:00	36.6	60	/	3.5 сек
	18:00	37.1	70	/	3.0 сек
3	18:30	37.0	/	/	1.0 сек
	21:00	37.4	/	/	/
	09:00	38.0	124	20	2.0 сек
	10:00	38.1	105	20	1.5 сек
4	11:30	37.8	100	20	2.0 сек
	08:00	38.0	/	20	3.0 сек
	16:00	38.0	/	20	2.0 сек
	18:00	38.0	/	20	2.0 сек

Хипотермијата која е забележана вториот ден од почетокот на терапијата кај пациент со број 5 ја поистоветуваме со попуштање на компензаторниот механизам на организмот на пациентот. Имено хиповолемијата и хипотензијата последично предизвикуваат хипотермија (9) кај пациентите во состојба на шок. Корекција на хиповолемијата и хипотензијата кај хипотермични пациенти резултира со нормална или зголемена телесна температура (10) што можеше да се забележи и кај пациентите со број 5 и 6 (табела 5 и 6).

Табела 6: Движење на клиничките параметри кај пациентот број 6 по примената на флуидна терапија

Време	Температура	Пулс	Дишење	CRT
При прием (12h)	37,3	173	35	3.0 сек
14h	38,2	180	30	1.0 сек
18h	39,2	160	35	2.0 сек

Реалните податоци за телесната температура можеме да се добијат дури по корекција на хиповолемијата (9) што е пример и кај прикажаните пациенти. Хипотензијата предизвикува вазоконстриктивен одговор (клинички се отчитува со скратување на CRT) кој го поддржува животот на пациентот на кратко време. Со овој одговор поддржана е перфузијата во мозокот и коронарниот крвоток, но во исто време се намалува циркулацијата во спланхникусот, мускулите и кожата (1). Кај пациентите со број 2, 5 и 6 по спроведената флуидна терапија корегираниа е хиперфузијата и хипотензијата при што забележана е последична нормализација на CRT и пулсот (табела 4, 5 и 6).

Пациентите со реден број 3, 4, 7 и 8 иако по аплицираната флуидна терапија иницијално реагираа позитивно во поглед на мерените параметри. Сепак етиологијата на шокот состојба со време доведе до егзацербација на процесот што резултираше со летален исход.

ЗАКЛУЧОК

Од сето погоре изложено може да се заклучи дека важна улога во ефикасноста на терапијата на шокот игра времето на апликација на флуидната терапија. Основна терапија при состојба на шок е брзата

- корекција на хиповолемијата при што добри
- резултати се можни само доколку лечењето
- е адекватно спроведено (интравенска
- апликација на кристалоидни и колоидни
- раствори). Мониторингот на пациентот во
- состојба на шок и правовремената симпто-
- матска терапија претставува суштествен дел
- во процесот на стабилизација на истиот.

INFLUENCE OF FLUID THERAPY FOR STABILIZATION OF DOGS IN SHOCK CAUSED WITH DIFFERENT ETIOLOGY (case report)

Novakov Todor¹, Trojacanec Plamen², Matijatko Vesna³,
Velev Romel¹, Jurkic Gabrijela³, Ilievska Ksenija²

¹Department of pharmacology and toxicology, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje,

²Department by surgery, ophthalmology and orthopedy, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje,

³Department of internal disease of small animals, Veterinary Faculty of Zagreb

e-mail: todornovakov@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

The aim of this work is the portrayal of shock in a small practice and its timely and proper treatment.

This study included a total of 8 dogs that are numbered from 1 to 8. In all animals was performed complete general clinical index, the venous route was applied, and are accompanied by clinical parameters during treatment. Research showing that all animals were received in shock. In all our study patients, fluid therapy was occurred to update and maintain lost volume, exception makes patient number one wich with respect to the diagnosis and classification of shock succumb on other therapy. All patients received fluid therapy in the form of one or multiple bolus colloid fluids Hydroxyethyl Starch 6% (HAES-a) dosage of 3-15 ml/kg with a physiological solution in the dosage of 10-50 ml/kg. Our study showed a positive response after applications of bolus HAES and physiological solutions. Dogs 1, 2, 5 and 6 after therapy was stabilize body temperature (TT), CRT, and the frequency. The most relevant example is the dog number 2, who received value of TT 40.9, CRT 4 seconds, and the frequency was 222, which the value for 18 hours changed to TT 38.4, CRT 3 seconds and the frequency was 180th. Dogs (5, 6) gave a positive response to the protocol to stabilize shock. Dogs 3, 4, 7 and 8 have an initial positive reactions in some parameters, but etiological situation has led to deterioration and mortalities. We have concluded that the time of applications and attempt have significant role in the successible treatment to stabilize a patients. Significant results are possible only if treatment is timely and adequately (a combination of colloids and crystalloid). The basis of shock therapy is the correction hipovolemia appropriate liquid, intravenous applied in the fastest possible time.

Key words: fluid therapy, stabilization, shock, dogs.

ЛИТЕРАТУРА

1. King L. G., Boag A. (2007): BSAVA Manual of Canine and Feline, Emergency and Critical Care. Second ed., Aldrich J., 17 - 30.
2. Matijatko V., Kiš I. (2001): Hitna stanja u veterinarskoj medicini-III. Septični pacijent u jedinici intenzivne skrbi. Hrv. vet. vjesn. 25:27-28.
3. Kirby R. (2004): Critical Care: Shock and Resustitation. 29th World Congress of the WSAVA,
4. DiBartola S. P. (2006): Fluid, Electrolyte and Acid-Base Disorders bo Small Animale Practice,

-
- Day T. K. & Bateman S., 325-391, 403-419, 540-564, 567-583. .
5. Nelson R. W., Couto C. G. (2003): Small Animal Internal Medicine. Third ed., 118-120, 387- 389. .
6. Bagshaw S.M., Bellomo R. (2006): Fluid resuscitation and the septic kidney. *Curr. Opin. Crit. Care.* 12, 527-530. .
7. Ettinger S., Feldman E.C., (2000): Textbook of Veterinary Internal Medicine diseases of the dog and cat. Fifth ed., Fluid and electrolyte therapy, 325-347. .
8. Hauptman J. (1996): Fluid Balance and Therapy. .
9. Nyström P.O. (1998): The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *J. Antimicrob. Chemother.* 41, Suppl. A, 1-7. .
10. Hopper K. (2008): The use of plasma in the critical patient. 14th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium. 777 - 780. .
11. Houston D. M., Radostits O. M. (2000): The Clinical Examination. In: Radostits O.M., Mayhew I.G., Houston D.M. (Eds.), *Veterinary Clinical Examination and Diagnosis*. W.B. Saunders, London, pp. 91-124. .

УПАТСТВО ДО АВТОРИТЕ

Македонски ветеринарен преглед е стручно списание кое го објавува Факултетот за Ветеринарна Медицина од Скопје. Во списанието се објавуваат изворни научни трудови, клинички и лабораториски искуства, прикази на случаи, ревиски трудови, магистериуми и други прилози од сите области на ветеринарната медицината и сродните науки. Право на објавување имаат сите доктори по ветеринарна медицина, и други вработени во државните и приватните организации во Р. Македонија и надвор од неа. Ракописите поднесени за објавување во Македонскиот ветеринарен преглед стануваат постојана сопственост на списанието и неможат да бидат објавувани на друго место без потпишана дозвола од авторот и од списанието. Експериментите на животни треба да бидат изведени во согласност со веќе прифатените принципи за одгледување и употреба на животните.

ТИПОВИ НА ПУБЛИКАЦИИ

Во Македонски ветеринарен преглед се објавуваат оригинални трудови, прегледни трудови, кратки соопштенија и прикази на случај.

Оригинални трудови: Оригиналните трудови покриваат целосни извештаи од истражувачка работа напишани според зададени упатство на подготовка со прецизен опис и целосна интерпретација на теоретска и експериментална работа.

Прегледни трудови: Прегледните трудови и монографии кои ги вклучуваат сите аспекти од ветеринарната наука се прифатливи за МВП. Авторитативен и критички преглед на моменталната состојба и одлично познавање на проблематиката која е предмет на анализа е потребно за прегледните трудови.

Кратки соопштенија и прикази на случај: Кратките соопштенија и прикази на случај се наменети за промоција на нови идеи и резултати во нови или развојни области на ветеринарната наука. Во нив се прикажуваат важни прашања од клинички и биомедицински истражувања.

ФОРМА НА ПОДНЕСОК

Трудовите доставени за објавување во **Македонски ветеринарен преглед** се поднесуваат на македонски јазик со абстракт на англиски јазик подготвени според упатството за подготовка.

Трудовите заедно со табелите со нивните наслови и сликите со легенди, се чукаат со двоен проред на А4 формат (21 x 28 см) со

· маргини од најмалку 2.5 см од секоја страна.
· Ракописот треба да е со фронт мац ц тимес за македонскиот текст или times new roman за англискиот абстракт со големина на фронтот од 12. Насловот, абстрактот, референците, секоја табела или слика започнува со новата страна. Секоја страна треба да биде нумерирана. Сите табели и слики се нумерираат последователно со користење на арабски броеви.

НАСЛОВНА СТРАНА

Насловната страна на трудот треба да го содржи насловот на трудот, целосните имиња на авторите почнувајќи со нивното презиме како и институцијата каде припаѓаат. Имиња на авторите (вклучувајќи ги имињата, средните имиња и презимињата) се без академски степени. Доколку постојат повеќе автори, после името на авторот се апострофира мала арабска бројка која ја означува адресата на институцијата каде што е припаѓа. Во посебен оддел како благодарност се внесуваат и податоци ако трудот е некаде рефериран, како и тоа дали е фикансиран од некаков проект или институција (со бројот на проектот и комплетниот наслов на институцијата и местото).

На посебен параграф се додава адреса за кореспонденција која го вклучува името на коресподентниот автор, работната позиција, адреса, телефон, факс и е-маил адреса.

НАСЛОВ

Насловот треба да биде караток и информативен. Се чука со големи букви со

фонт 12. Се препорачува во него да се содржат зборови кои што се неопходни за идентификација на предметот на истражувања, видовите на животни на кои се правени експерименти. Хемиски формули, латински кратенки од имиња се дозволени во насловот.

АБСТРАКТ

Извадок од 100 до 250 зборови за оригиналните трудови и 100 зборови за приказ на случај се чука на посебен лист со двоен проред и се доставува како втора страница од трудот.

Содржината во извадокот треба да е независна целина а не да опишува што е изнесено во трудот. Текстот се изнесува во пасивна форма (без ние или нашите). Големината на фонтот е 10.

Да не се внесуваат други кратенки освен стандардните единици за мерките и нивните изведени единици.

КЛУЧНИ ЗБОРОВИ

Под текстот се внесуваат до 5 клучни зборови. Потребно е да се внесе видот на животните употребени за испитување, ако не е даден во насловот. За избор на клучни зборови се препорачува MeSX во Index Medicus/Medline, или на веб страната: www.nlm.nih.gov

СОДРЖИНА НА ТРУДОТ

Текстот се дели на: **вовед, материјал и методи, резултати и дискусија**. Поинаков редослед можат да имаат ревиските трудови и приказите на случај.

Во трудовите треба да се употребуваат единици од интернационалниот систем на единици (SI). Се порачува употреба на симболите на основните и измерените мерни единици во македонскиот јазик како и на префиксите на кирилица

Благодарностите се пишуваат на крајот од текстот, пред литературните податоци.

Личните преписки, ракописите при приготвувањето или другите необјавени податоци не се цитираат во литературата но можат да се споменат во текстот во заграда.

РЕФЕРЕНЦИ

Литературните податоци во текстот се цитираат со арапски бројки во загради, во иста линија со текстот. Литературата се пишува на посебен лист хартија, со двоен

проред, според редоследот на споменувањето во текстот.

1. Bunger, L., & Hill, W. G. (2005). Genetics of body composition and metabolic rate. In E. J. Eisen (Ed.), *The Mouse in Animal Genetics and Breeding Research* (pp. 131–160). London: Imperial College Press.
2. COMA (1984). *Diet and Cardiovascular Disease* (Department of Health and Social Security). Report of the Panel on Diet in Relation to Cardiovascular Disease. London: The Stationary Office.
3. Gibson, L.L., Croken, G. & Byrbidge-Boyd, C.M. (2006). The Effects of Terminal Sire Breed on Carcass Quality and Sensory Traits of Lamb. A final report to the Alberta Sheep and Wool Commission, [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/sg11071/\\$FILE/lacombe_sensory_trial](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/sg11071/$FILE/lacombe_sensory_trial).
4. Sazili, A.Q., Parr, T., Sensky, P.L., Jones, S.W., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., (2005). The relationship between slow and fast myosin heavy chain content, calpastatin and meat tenderness in different ovine skeletal muscles. *Meat Sci.* 69, 17–25.
5. van den Dool, S.W., M.N. Wasser, J.W. Fijter, J. Hoekstra, R.J. van der Geest. (2005). Functional renal volume: quantitative analysis at gadolinium-enhanced MR angiography – feasibility study in healthy potential kidney donors. *Radiology* 236: 189–195.

ТАБЕЛИ И СЛИКИ

Табелте се приложуваат на посебна страна, со двоен проред и секоја табела треба да вклучува наслов во JPG или TIFF формат со резолуција 300 dpi.

Секоја табела, слика или литературен податок се цитира во текстот со арапски бројки. Редоследот на појавувањето во текстот го определува нивниот број. Големината на текстот е со фонт 10.

ПОДНЕСУВАЊЕ НА РАКОПИСОТ

Со секој поднесен труд треба да биде доставена потпишаната изјава за пренос на авторските права.

Ракописите се испраќаат на следнава адреса: Факултет за ветеринарна Медицина Македонски Ветеринарен преглед Лазар Поп Трајков 5/7 1000 Скопје Р. Македонија

Се поднесуваат во електронски запис (дискета, CD, USB) или по електронска пошта.

Трудот го поднесува коресподентниот автор.

ЕКСКЛУЗИВНА ИЗЈАВА ЗА ОБЈАВУВАЊЕ НА АВТОРИТЕ КОИ ПОДНЕСУВААТ ТРУД

Потврдувам дека ниеден материал во овој ракопис не е објавен порано и ниеден материјал не е даден никаде за објавување од било кој вид, освен извадок (абстракт) од 400 зборови или помалку

СОГЛАСНОСТ ЗА ПРЕНОС НА ПЕЧАТАРСКИТЕ ПРАВА

Печатарските права на трудот со наслов:

кој ќе се објави во списанието Македонски ветеринарен преглед се пренесуваат на списанието, но авторите го задржуваат следново:

- Сите права на сопственост освен печатарските, како правото на патент
- Правото за употреба на дел или сите делови од овој труд за своја лична работа.

презиме и име

ПОТПИС

Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG · 30130 Hannover

University Sts Kiril and Metodij
Skopje, Faculty of Veterinary Medicine
Macedonian Veterinary Rewiewe
Assitant editor
Mr. Prof. Dr. Vlatko Illieski
Lazar Pop-Trajkov 5/7
1000 Skopje
Mazedonien

contact person:
Maren Rheinländer
Public Relations

phone/fax
+49 511 8550 2537
+49 511 8550 2408

e-mail
rheinlaender@schluetersche.de

date
27.11.2009

Book review: "Small Animal Neurology" by André Jaggy (ed.)

Dear Mr. Professor Illieski,

In Germany we are a publishing house with a renowned programme in veterinary medicine. Currently we are expanding our range of English language veterinary books. Many excellent titles are already available; the new book "**Small Animal Neurology**" follows actually.

This successful illustrated textbook has been authored by a group of international experts on small animal neurology, now brought up to date for the English speaking market by one of the most acknowledged neurologist in the US. The book provides a comprehensive compilation of all the clinical aspects of small animal neurology.

You will find this new title displayed in the attached paper. Are you willing to review the new book in your journal? - If so, please do not hesitate to order your review copy for free. You will find an answer fax enclosed. The copy will be send under separate cover as soon as we get your reply.

Thank you for your attention.

Yours sincerely



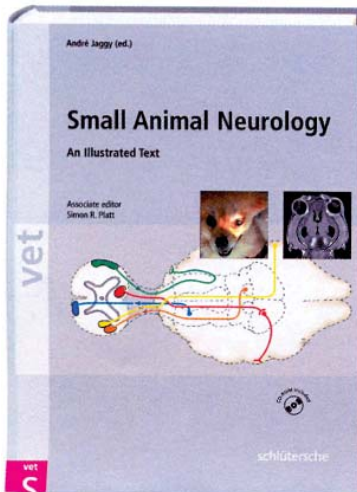
Maren Rheinländer

Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG · Geschäftsbereich Fach-Publikationen

Postanschrift: 30130 Hannover · Adresse: Hans-Böckler-Allee 7, 30173 Hannover · Telefon 0511 8550-0 · Telefax 0511 8550-2400
www.schluetersche.de · info-fp@schluetersche.de · Amtsgericht Hannover HRA 15042 · Schlütersche Verwaltungsgesellschaft mbH, Amtsgericht
Hannover HRB 6034 · Geschäftsführung: Frank-Peter Oppenborn, Stefan Schnieder · Vorsitzender des Beirats: Dipl.-Kfm. Jörg Selchow
USt-IdNr. DE 115697748

Sparkasse Hannover (BLZ 250 501 80) Konto 1 019 900 · IBAN DE41 2505 0180 0001 0199 00 · BIC SPKHDE2H

NEW!



André Jaggy (ed.)

Small Animal Neurology

An Illustrated Text

Associate editor Simon Platt

With video sequences on CD-ROM
2010. 608 pages, 586 coloured illustrations
21.0 x 27.5 cm, hardcover
ISBN 978-3-89993-026-9
€ 166,- / US\$ 280,- / £ 166,-

- Comprehensive compilation of all clinical aspects of small animal neurology
- Practical elaboration of all relevant neurological diseases
- CD-ROM with video sequences showing the individual steps of a clinical neurological investigation and exemplary clinical cases

This successful illustrated textbook has been authored by a group of international experts on small animal neurology, now brought up to date for the English speaking market by one of the most acknowledged neurologist in the US.

The **general section** presents a detailed description of the neurological investigation, as well as an exhaustive explanation of neuropathology and genetic diseases. A good introduction to the practically relevant bases of neurology is provided by the chapters on laboratory tests, anesthesia, radiology, electrodiagnostics, rehabilitation, and pharmacology. Neurosurgery and neurological emergencies are described and explained in detail.

The **specific section** discusses neurological diseases according to their localization and provides concrete information about the diagnosis and therapy of individual clinical disease patterns.

The exceptional aspects of this textbook are the imaging diagnostic illustrations showing the neuroanatomy and -pathology, which are given in an illustrated appendix, and the enclosed CD-ROM with its step-by-step demonstration of the clinical neurological investigation and examples of neurological diseases.

Contents

- Clinical neurological investigation
- Neuropathology
- Laboratory investigations
- Anesthesia
- Neuroradiology
- Electrodiagnostics
- Rehabilitation
- Acupuncture
- Neuropharmacology
- Neurosurgery
- Neurological emergencies
- Neurological disease according to localisation
- Neuropsychiatry
- Neuroparasitology

The authors

Prof. André Jaggy is the Director of the Clinical Veterinary Medical Department of the Vetsuisse School in Bern, Switzerland. He has collected a team of international specialists in the field of neurology to work with him as authors. Prof. Simon Platt, University of Georgia, USA, has revised and updated the book for the English-speaking market.



FACULTY OF VETERINARY MEDICINE – SKOPJE
ФАКУЛТЕТ ЗА ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА - СКОПЈЕ