

UNIVERZITET U BEOGRADU

FAKULTET VETERINARSKJE MEDICINE

**ZBORNİK PREDAVANJA XLI SEMINARA  
ZA INOVACIJE ZNANJA VETERINARA**

Beograd, 2020

**Organizator:**  
Fakultet veterinarske medicine  
Univerzitet u Beogradu

**Počasní predsednik Organizacionog odbora:**

Prof. dr Teodorović Vlado,  
dekan Fakulteta veterinarske medicine

**Organizacioni odbor:**

**predsednik:** prof. dr Kirovski Danijela

**članovi:** prof. dr Krstić Vanja, prof. dr Mirilović Milorad, prof. dr Jovanović B. Ivan,  
prof. dr Milanović Svetlana, prof. dr Petrujkić Branko, Gabrić Maja

**Programski odbor:**

**predsednik:** prof. dr Lazarević Miodrag

**članovi:** prof. dr Resanović Radmila, prof. dr Karabasil Nedeljko, prof. dr Šefer Dragan,  
prof. dr Radojičić Sonja, prof. dr Vujanac Ivan, prof. dr Kukulj Vladimir



Izdavač:  
Fakultet veterinarske medicine, Beograd  
Centar za izdavačku delatnost i promet učila



Za izdavača:  
Prof. dr Teodorović Vlado, dekan FVM

Urednik:  
Prof. dr Lazarević Miodrag

Lektura i korektura:  
Prof. dr Jovanović B. Ivan  
Prof. dr Lazarević Miodrag

Dizajn korica:  
Prof. dr Jovanović B. Ivan

Tehnički urednik:  
Lazarević Gordana

Štampa:  
Naučna KMD, Beograd, 2020

Tiraž: 450 primeraka

ISBN 978-86-80446-35-6

# SADRŽAJ

## PLENARNA PREDAVANJA

- ◆ **Đorđević Milena, Nešić Ivana, Blagojević Miloš:**  
Anatomske specifičnosti digestivnog trakta  
konja kao mogući uzrok nastanka kolika ..... 3
- ◆ **Radojičić Sonja, Valčić Miroslav, Stević Nataša:**  
Naročito opasne zarazne bolesti životinja  
od značaja za Srbiju i region ..... 11
- ◆ **Nedeljković Trailović Jelena, Petrujković Branko:**  
Savremeni koncept borbe sa mikotoksikozama životinja ..... 23
- ◆ **Giger Urs:**  
Praktične metode za dijagnozu i praćenje anemija ..... 39
- ◆ **Ilić Vojislav:**  
Marketing u veterinarskoj medicini ..... 45
- ◆ **Milovanović Mirjana, Andrić Nenad:**  
Terapija i kontrola bola kod domaćih životinja ..... 51
- ◆ **Fratric Natalija, Stojić Milica, Gvozdić Dragan:**  
Primena digitalne tehnologije na farmama mlečnih krava ..... 63

## RADIONICE

- ◆ **Dimitrijević Mirjana, Bošković Tamara,  
Vasilev Dragan, Karabasil Neđeljko:**  
Ocena parametara kvaliteta jaja i proizvoda  
ribarstva na osnovu novih Pravilnika ..... 75
- ◆ **Vučičević Ivana, Marinković Darko, Kukulj Vladimir,  
Nešić Slađan, Aničić Milan, Aleksić-Kovačević Sanja:**  
Uzorkovanje tkiva za dijagnostiku TSE u zemlji sa statusom  
zanemarljivog rizika ..... 77

◆ <b>Radulović Stamen, Šefer Dragan, Marković Radmila, Perić Dejan, Jovanović Dragoljub:</b> Puferski kapacitet hrane u službi optimalnih rezultata u intenzivnoj stočarskoj proizvodnji .....	87
◆ <b>Pavlović Miloš, Stanišić Ljubomir, Nestorović Ivan:</b> Kolor Doppler i B-mod ultrasonografija u dijagnostici patoloških stanja pasa .....	101
◆ <b>Vakanjac Slobodanka, Magaš Vladimir, Milan Maletić, Nedić Svetlana:</b> Analiza parametara duboko zamrznutog semena bika i ejakulata pasa CASA metodom .....	113
◆ <b>Aleksić Nevenka, Stanimirović Zoran, Stevanović Jevrosima, Jovanović Nemanja, Kulišić Zoran:</b> Rezistencija parazita na antihelmintike – sadašnja saznanja i perspektive: šta možemo učiniti da se stanje popravi? .....	121
◆ <b>Vujanac Ivan, Prodanović Radiša, Nedić Sreten, Arsić Sveta, Jovanović Ljubomir, Kirovski Danijela:</b> Upotreba metaboličkog profila u kontroli zdravlja i proizvodnih sposobnosti visokomlečnih krava .....	133
◆ <b>Giger Urs, Francuski Jelena, Stojić Milica:</b> Klinička hematologija .....	143
<b>INDEKS AUTORA .....</b>	<b>145</b>
<b>SPONZORI .....</b>	<b>147</b>

## UZORKOVANJE TKIVA ZA DIJAGNOSTIKU TSE U ZEMLJI SA STATUSOM ZANEMARLJIVOG RIZIKA

Vučičević Ivana, Marinković Darko, Kukolj Vladimir,  
Nešić Slađan, Aničić Milan, Aleksić-Kovačević Sanja\*

---

*Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE) su neurodegenerativna oboljenja životinja i ljudi koja se karakterišu nakupljanjem izmenjenog oblika prionskog proteina (PrP<sup>res</sup>) u mozgu. Asimptomatski period može trajati i nekoliko godina, ali je bolest uvek sa smrtnim ishodom. Monitoring TSE obuhvata ispitivanje prisustva PrP<sup>res</sup> kod goveda, a zatim i kod ovaca i koza, kod kojih uzrokuje oboljenje pod nazivom "ovčija svrabež". U novije vreme se, u većini zemalja EU, naročita pažnja poklanja prisustvu PrP<sup>res</sup> kod jelenske divljači i pojavi hronične slabosti jelena. Spongiformna encefalopatija goveda i "ovčija svrabež" se javljaju u klasičnoj i atipičnoj formi, pri čemu se smatra da atipična forma nastaje spontano i da nije kontagiozna. Na osnovu OIE podele, razlikuju se dve kategorije statusa u pogledu prisustva bovine spongiformne encefalopatije (BSE). Od 2019. godine, Republika Srbija je stekla status zemlje sa zanemarljivim rizikom. Radi održavanja ovog statusa zemlje, potrebno je od svih propisanih vrsta i kategorija životinja vršiti pravilno uzorkovanje i ispitivanje tkiva. Za analizu se uzorkuje deo produžene moždine u nivou obex-a, odnosno ceo mozak kod klinički sumnjivih slučajeva. Uzorkovanje produžene moždine, bez otvaranja lobanje, obavlja se upotrebom instrumenta u obliku kašike sa oštrim ivicama. Greške prilikom uzorkovanja, pakovanja, slanja i obeležavanja uzorkovanog materijala mogu ugroziti verodostojnost rezultata laboratorijske analize.*

**Ključne reči:** dijagnostika, greške, TSE, uzorkovanje

### UVOD

Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE), poznate i kao "prionske bolesti", su neurodegenerativna oboljenja različitih vrsta životinja i ljudi koja se

---

\*Dr Vučićević Ivana, docent, dr Marinković Darko, vanredni profesor, dr Kukolj Vladimir, vanredni profesor, dr Nešić Slađan, asistent, dr Aničić Milan, asistent, dr Aleksić-Kovačević Sanja, redovni profesor, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

karakterišu nakupljanjem izmenjenog oblika prionskog proteina u mozgu. Nakon infekcije, asimptomatski period može trajati i nekoliko godina, ali je bolest progresivna i uvek sa smrtnim ishodom. U zavisnosti od vrste životinja, TSE se javlja u različitim formama, pa se tako kod goveda javlja kao spongiformna encefalopatija goveda (engl. *Bovine Spongiform Encephalopathy* – BSE), ovčija svrabež (engl. *Scrapie*) kod ovaca i koza, spongiformna encefalopatija mačaka (engl. *Feline Spongiform Encephalopathy* – FSE), transmisivna encefalopatija nerčeva (engl. *Transmissible Mink Encephalopathy* – TME) i hronična slabost jelena (engl. *Chronic Wasting Disease* – CWD). Kod ljudi se sreće varijanta Krojcfeldt-Jakobove bolesti (engl. *variant Creutzfeldt-Jakob disease* – vCJD) za koju se smatra da je oblik transmisivne spongiformne encefalopatije koji se može dovesti u vezu sa spongiformnom encefalopatijom goveda i njenom sposobnošću prelaska barijere vrste.

S obzirom na zoonotski potencijal, kao i na činjenicu da se prionske bolesti kod životinja uglavnom javljaju u hroničnoj supkliničkoj formi, veoma je bitno sprovođenje monitoringa prvenstveno kod goveda, ovaca i koza. U novije vreme se u zemljama EU sve veća pažnja poklanja monitoringu prisustva patološkog prion proteina kod jelenske divljači i pojavi hronične slabosti jelena.

Tokom 2004. godine, u Italiji i Francuskoj su u okviru redovnog monitoringa dijagnostikovane dve vrste atipičnih spongiformnih encefalopatija kod goveda, različite od klasične spongiformne encefalopatije (engl. *Classical Bovine Spongiform Encephalopathy* - C-BSE). Kasnije su ovi sojevi takođe identifikovani i u drugim evropskim zemljama, kao i u Japanu i Sjedinjenim Američkim Državama. Sojevi su označeni kao L-tip (L-BSE) i H-tip (H-BSE). L-tip je poznat i kao amiloidna spongiformna encefalopatija goveda zbog prisustva PrP-pozitivnih plakova amiloida u mozgu. Ovčija svrabež se takođe može javiti u klasičnoj i atipičnoj formi, pri čemu se smatra da se i atipična forma svrabeži, kao i atipična forma BSE, javljaju spontano i da nisu kontagiozne.

U cilju praćenja i kontrole pojave BSE, Svetska organizacija za zdravlje životinja (franc. *Office International des Epizooties* – OIE,) je utvrdila kriterijume prema kojima se razlikuju dve kategorije statusa u pogledu prisustva BSE – zemlje sa zanemarljivim rizikom i zemlje sa kontrolisanim rizikom, dok zemlje koje ne ispunjavaju uslove za sticanje statusa predstavljaju zemlje sa neodređenim BSE rizikom. Republika Srbija je 2019. godine stekla status zemlje sa zanemarljivim rizikom. Status je potrebno obnavljati svake godine, a jedan od najbitnih kriterijuma za obnovu je laboratorijsko ispitivanje odgovarajućeg broja jedinki. Za potrebe testiranja životinja na TSE, uzorkuje se deo produžene moždine u nivou obex-a. Ukoliko postoji sumnja, na osnovu kliničke slike, da je životinja obolela od TSE, na pregled se šalje ceo mozak i pregledaju se reprezentativna područja. Greške prilikom uzorkovanja, pakovanja, slanja i obeležavanja uzorkovanog materijala mogu ugroziti verodostojnost rezultata laboratorijske analize.

## Etiologija

“Prionske bolesti” nastaju kao posledica akumulacije strukturno aberantnih prion proteina koji su otporni na dejstvo proteaza (engl. *Protease-resistant prion protein* - PrP<sup>res</sup>). U zavisnosti od životinjske vrste kod koje se bolest javlja, patološki prion proteini se mogu označavati i kao PrP<sup>sc</sup>, PrP<sup>bse</sup>, PrP<sup>cwd</sup>, mada se uglavnom PrP<sup>sc</sup> koristi kao univerzalna oznaka. Patološke, kao i fiziološke ćelijske prion proteine (engl. *Cellular prion protein* - PrP<sup>c</sup>) kodira *Prnp* gen. Aberantni i ćelijski neizmenjeni prion proteini imaju istu primarnu strukturu u pogledu sekvence aminokiselina, ali se razlikuju prema prostornoj konformaciji, što za posledicu ima različite biohemijske osobine. Smatra se da PrP<sup>res</sup> imaju sposobnost da indukuju promenu konformacije normalnog ćelijskog prion proteina i da na taj način dovode do stvaranja velikog broja patoloških prion proteina. Imunski sistem najverovatnije ne prepoznaje PrP<sup>res</sup> jer ima istu primarnu strukturu kao fiziološki ćelijski prion protein, uprkos izrazitim razlikama u konformaciji.

## Spongiformna encefalopatija goveda (BSE)

Klasična spongiformna encefalopatija goveda je oboljenje goveda uzrokovano prion proteinom. Prvi slučaj je registrovan 1987. godine u Velikoj Britaniji, a verovatno je nastao kao rezultat ishrane goveda mesno-koštanim brašnom koje je poticalo od goveda sa spongiformnom encefalopatijom (usled spontane izmene prion proteina) ili od ovaca koje su bile obolele od ovčije svrabeži. Za sada je C-BSE jedina TSE za koju je dokazano da može izazvati oboljenje i kod ljudi, te je razumljivo zašto je pojava BSE krajem prošlog veka izazvala veliku pažnju i donošenje hitnih mera kontrole i prevencije, u okviru kojih je uvedena i potpuna zabrana upotrebe mesno-koštanog brašna za sve farmske životinje (Regulation (EC) No 999/2001).

Nakon 2004. godine, kada su otkriveni u Italiji i Francuskoj, atipični sojevi BSE su dijagnostikovani i u mnogim drugim zemljama sveta. Poreklo atipičnih sojeva BSE nije u potpunosti razjašnjeno, ali se smatra da predstavljaju spontane slučajeve TSE kod goveda, slično sporadičnim slučajevima CJD-a kod čoveka. Atipični sojevi se otkrivaju uglavnom kod goveda starijih od 8 godina. Većina slučajeva je dijagnostikovana kod jedinki sa redovnog klanja, bez prijave klinički sumnjivih slučajeva, što ukazuje na to da atipični oblici BSE najverovatnije nemaju klinički vidljivu formu bolesti, za razliku od C-BSE.

Najveći broj slučajeva C-BSE je dijagnostikovano u Velikoj Britaniji i to ukupno 184 627 pozitivnih goveda, od čega je 3 872 slučaja bilo nakon 2001. godine. Tokom 2018. godine u EU je ukupno testirano 1 181 934 goveda. Testirane su hitno zaklane životinje, životinje sa kliničkim znacima (sumnjive na BSE), redovno zaklane i uginule jedinke. Kao rezultat pomenutih ispitivanja, potvrđen je jedan slučaj C-BSE u Škotskoj i tri atipična slučaja u Francuskoj (dva L-BSE i jedan H-BSE). U zemljama jugoistočne Evrope, zabeležen je manji broj slučajeva spongiformnih encefalopatija kod goveda. U Sloveniji je dijagnostikovano osam kla-

sičnih slučajeva BSE i jedan atipični H-BSE, u Grčkoj i u Rumuniji po jedan slučaj C-BSE, s tim da je u Rumuniji zabeležen i jedan atipični L-BSE. U Republici Srbiji do sada nisu dijagnostikovani, kako klasični, tako ni atipični slučajevi BSE kod testiranih goveda.

### **Ovčija svrabež (*Scrapie*)**

Ovčija svrabež ili *Scrapie* je neurodegenerativno oboljenje ovaca i koza uzrokovano spontanom izmenom čelijskog prion proteina i njegovim prelaskom u patološki oblik. Klasičan *Scrapie* je opisan pre skoro 300 godina u Velikoj Britaniji i drugim zapadnoevropskim zemljama, a od tada se proširio i na ostale zemlje sveta, izuzev Australije i Novog Zelanda.

Osetljivost ovaca na svrabež zavisi od polimorfizma gena *Prnp* koji kodira prionski protein i prirode uzročnika prionske bolesti. Izmene određenih aminokiselina kodiranog proteina imaju značajnu ulogu u osetljivosti, odnosno otpornosti jedinki na svrabež. Aleli se određuju na osnovu aminokiselina kodiranih kodonima 136 (valin), 154 (arginin) i 171 (glutamin) gena prion proteina. Svaki alel je obeležen troslovnim kodom, pri čemu je ARR alel povezan sa visokom rezistencijom na klasičnu svrabež, ali ne pruža nikakvu posebnu zaštitu protiv atipične forme. Atipična svrabež nije zarazna bolest i javlja se sporadično kao degenerativna bolest nervnog tkiva kod starijih ovaca. U evropskim zemljama je selekcija životinja nosioca alela ARR uspešno primenjena u kontroli i iskorenjivanju klasične svrabeži ovaca u stadima u kojima su dijagnostikovani slučajevi ove bolesti. Programi uzgoja podrazumevaju genotipizaciju životinja, pri čemu se životinje sa alelima dovoljno rezistentnim na svrabež, koriste kao životinje za uzgoj, kako bi se povećala učestalost rezistentnog alela u narednim generacijama. U Velikoj Britaniji je sprovođenje ovih programa započeto još krajem prošlog veka. Gotovo za sve životinje visoke genetske vrednosti u Sloveniji je urađena genotipizacija tokom prve tri godine selekcije, a od 2009. do 2015. godine je rađena genotipizacija samo za novoodabrane životinje. U Republici Srbiji je do sada dijagnostikovano samo jedan slučaj svrabeži kod ovaca. Međutim, zbog povremene pojave slučajeva svrabeži u zemljama u okruženju, bilo bi neophodno izvršiti genotipizaciju ovaca i koza i na teritoriji Republike Srbije.

Tokom 2018. Godine, u zemljama EU je dijagnostikovano 934 slučaja svrabeži kod ovaca i to, 821 slučaj klasične svrabeži i 113 slučajeva atipične svrabeži. Najveći broj slučajeva klasične svrabeži prijavile su četiri zemlje, i to Grčka, Italija, Rumunija i Španija, kao što je to bio slučaj i prethodne godine. U 2018. godini, genotipizacija na slučajnim uzorcima populacije ovaca izvršena je u osam država članica EU. Kod koza su u istom periodu zabeležena 523 slučaja svrabeži, od kojih su 517 bili slučajevi klasične, a 6 slučajeva atipične svrabeži.



## Hronična slabost jelena (CWD)

Hronična slabost jelena je neurodegenerativno oboljenje uzrokovano prionima koje se može javiti kod jelenske i srneće divljači. Prvi slučaj CWD je registrovan 1967. godine kod jelenske divljači u Koloradu, a devedesetih godina prošlog veka bolest je dospela i u južnu Koreju sa zaraženim životinjama uvezenim iz Kanade. Za razliku od priona koji uzrokuju BSE i ovčiju svrabež, prioni koji uzrokuju CWD su infektivni, što naročito utiče na povećanje broja zaraženih jedinki. Jelenska divljač se može zaraziti kada dođe u kontakt sa prionima, obično putem direktnog kontakta sa obolelom jedinkom i njenim telesnim tečnostima. Osim u centralnom nervnom sistemu, prioni se mogu naći u limfatičnom tkivu, fecesu, krvi, urinu, pljuvačci, bastu i koži, placenti, amnijskoj tečnosti, mleku i skeletnoj muskulaturi. Prioni koji uzrokuju CWD mogu opstati u spoljašnjoj sredini i biti infektivni za životinje.

Do sada je CWD potvrđena u najmanje 26 američkih država, tri kanadske provincije, južnoj Koreji, Finskoj, Norveškoj i Švedskoj, sa приметnim povećanjem registrovanih slučajeva u poslednjih 5 godina.

## Status zemlje u pogledu BSE

Svetska organizacija za zdravlje životinja je 1994. godine razvila proceduru na osnovu čijih standarda se vrši procena rizika kako bi se neka zemlja proglasila slobodnom od određene bolesti. Najpre se procedura primenjivala za slinavku i šap, a vremenom je proširena i na druge bolesti, uključujući klasičan oblik BSE.

Na osnovu OIE podele, razlikuju se dve kategorije statusa u odnosu na uslove koje zemlja ispunjava u pogledu BSE – zemlje sa zanemarljivim rizikom i zemlje sa kontrolisanim rizikom. Ukoliko neka zemlja ne ispunjava uslove za sticanje statusa označava se kao zemlja sa neodređenim statusom po pitanju BSE. Uslovi za sticanje statusa su propisani u okviru aneksa II Uredbe evropske komisije No 999/2001 (Regulation (EC) No 999/2001). Zvanično priznanje statusa bolesti u zemljama članicama je od velikog značaja za međunarodnu trgovinu. Od 2019. godine, Republika Srbija je stekla status države zanemarljivog rizika po pitanju BSE. Sticanjem i održavanjem službenog statusa, država takođe dokazuje transparentnost i pomaže u promociji zdravlja životinja i javnog zdravlja širom sveta. Radi održavanja statusa zemlje u pogledu BSE, kao i u cilju kontrole i sprečavanja pojave TSE potrebno je od svih propisanih vrsta i kategorija životinja izvršiti pravilno uzorkovanje i slanje tkiva na laboratorijsko ispitivanje. Naročito je bitno da se prijave i dijagnostički ispituju goveda sa kliničkim znacima koji predstavljaju sumnju na BSE.

## DIJAGNOSTIKA TRANSMISIVNIH SPONGIFORMNIH ENCEFALOPATIJA

### A. Klinički znakovi – jedinke sumnjive na BSE

Pasivni nadzor od strane farmera i veterinaru ima istorijski značajnu ulogu u ranom otkrivanju slučajeva BSE, s obzirom na to da su prvi znakovi bolesti veoma nespecifični i ogledaju se u promenama ponašanja, osetljivosti i kretanja jedinke. Ovakve promene mogu potrajati nedeljama pre nego što se razviju izraženi klinički znakovi koji bi doveli do postavljanja sumnje na BSE. Stoga je stepen svesti o kliničkim znakovima veoma bitan faktor koji utiče na otkrivanje BSE. Treba imati u vidu da postoji čitav niz promena koje nisu karakteristične za BSE, kao što su neupadljive promene ponašanja (npr. udaranje nogom u posudu za mužu), gubitak telesne težine, smanjena proizvodnja mleka ili ležanje.

Hipervigilnost, prenadraženost i nemir kada se životinji priđe glavni su znakovi koji bude sumnju na BSE. Kada se priđe stadu, jedinke obolele od BSE izgledaju uplašeno i duže vreme gledaju u osobu koja je došla, pri čemu obično izgledaju uznemireno i anksiozno i mogu naizmenično podizati ili spuštati glavu, udarati nogom o tlo i sl. Ovakvo ponašanje se često naziva "odbrambena agresija", jer se dešava samo u prisustvu posetioca, kada su životinje zatvorene i ne mogu da pobegnu. Kod jedinki sumnjivih na BSE, mogu se uočiti nevoljni asimetrični pokreti ušiju, trešenje i zabacivanje glave, kijanje, hrkanje, lizanje nosne ploče i sl. Hiperreaktivnost na određene spoljašnje nadražaje se opisuje pojmom „hiperestezija“ i može uzrokovati povlačenje životinje ukoliko pokušamo da je, npr. pomilujemo. Ovakve pojačane reakcije se mogu kvantifikovati tokom rutinskog testiranja funkcije kranijalnih nerava. Životinja pokazuje preteranu reakciju na taktilne podražaje glave ili vrata, ali se reakcija smanjuje kada životinju dodirujemo kaudalno.

U okviru pasivnog nadzora BSE kod odraslih goveda, u zemljama u kojima pojava BSE do tada nije utvrđena ili je mala učestalost pozitivnih slučajeva, preporučuje se da se klinički sumnjivi slučajevi eutanaziraju i da se uzorkuje ceo mozak i ispitaju reprezentativna područja. Mozak je potrebno uzorkovati neposredno nakon smrti primenom standardnog postupka. Ne postoje makroskopske promene na mozgu koje su patognomonične za BSE, a ukoliko se uoče bilo kakve lezije, potrebno je posebno uzorkovati promenjeno tkivo kako bi se isključile bolesti koje su diferencijalna dijagnoza.

Diferencijalno dijagnostički postoji čitav niz bolesti koje mogu imati slične kliničke simptome kao BSE. U obzir dolaze različiti degenerativni i razvojni poremećaji (hipoplazija malog mozga), metabolički poremećaji (hipomagnezijemija, hipokalcemija, ketoza, hepatična encefalopatija), poremećaji u ishrani (deficit bakra, B1 avitaminoza), neoplazme mozga i kičmene moždine, infektivne bolesti (virusne - maligna kataralna groznica, besnilo, Aujeckijeva bolest; bakterijske – listerioza; gljivične - aspergiloza, kriptokokoza; parazitske – sarkosporidioza), trovanja i dr.

## **B. Uzorkovanje i slanje materijala za dijagnostiku**

Prva faza u dijagnostici BSE je uzorkovanje odgovarajućeg materijala za dalje laboratorijsko ispitivanje. Mere za sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje TSE, zatim od kojih proizvodnih i starosnih kategorija životinja će se uzorci prikupljati u okviru aktivnog nadzora, kao i način uzorkovanja i upućivanja uzorka na laboratorijsko ispitivanje, propisani su Zakonom o veterinarstvu ("Sl. glasnik RS", br. 91/05 i 30/10) i podzakonskim aktima, pre svega Pravilnikom o utvrđivanju mera ranog otkrivanja i dijagnostike zarazne bolesti transmisivnih spongioformnih encefalopatija, načinu njihovog sprovođenja, kao i merama za sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje ove zarazne bolesti ("Sl. glasnik RS", br. 96/10 i 54/2019), Pravilnikom o utvrđivanju programa mera zdravstvene zaštite životinja za tekuću godinu, Pravilnikom o listi naročito opasnih zaraznih bolesti životinja i listi zaraznih bolesti životinja koje se obavezno prijavljuju, kao i o načinu njihove prijave i odjave ("Sl. glasnik RS", br. 49/06), Direktivom o postupanju prilikom sprovođenja monitoringa goveda na spongioformne encefalopatije goveda – BSE, Direktivom o načinu uzimanja i upućivanja uzorka potrebnog za laboratorijsko ispitivanje na prisustvo transmisivnih spongioformnih encefalopatija (TSE), Naredbom o preduzimanju mera za sprečavanje unošenja zarazne bolesti životinja transmisivnih spongioformnih encefalopatija i drugih bolesti životinja koje se mogu preneti sporednim proizvodima životinjskog porekla u Republiku Srbiju („Službeni glasnik RS“, broj 76/2019).

U našoj zemlji se radi ranog otkrivanja i dijagnostike TSE, vrši monitoring na govedima, ovcama i kozama, kao i kontrola hrane za životinje. Monitoring goveda koja su rođena i uzgajana u Republici Srbiji se sprovodi na svim govedima starijim od 72 meseca pri redovnom klanju, zatim govedima starijim od 24 meseca pri prinudnom klanju, klanju po hitnom postupku ili ukoliko su uginula, odnosno bez obzira na starost, ako ispoljavaju kliničke simptome bolesti. Jedinke koje potiču iz zemalja sa neodređenim rizikom testiraju se na BSE ukoliko su starije od 30 meseci pri redovnom klanju. Monitoring ovaca i koza se zasniva na dijagnostičkom ispitivanju jedinki zaklanih za ishranu ljudi, a broj jedinki se određuje prema planu ispitivanja koji donosi Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede.

Za analizu upotrebom brzih testova, kao i za konfirmativne metode potrebno je uzorkovati deo produžene moždine u nivou *obex-a*. Kod klinički sumnjivih slučajeva se preporučuje da se uzorkuje ceo mozak i pregledaju reprezentativna područja. U oba slučaja je najpre potrebno izvršiti odvajanje glave od trupa. Glava se postavlja tako da čeonim delom glave i dorzalnim delom njuške naleže na podlogu, dok je ventralni deo glave okrenut naviše. Meko tkivo na mestu prelaza glave u vrat se uklanja pomoću oštrog noža, a zatim se preseca zglobova kapsula atlanto-okcipitalnog zgloba, zatim mesto između atlasa i kondilusa potiljačne kosti i zaseca se mesto gde produžena moždina prelazi u kičmenu.

Nakon odvajanja glave, kod klinički sumnjivih životinja, najbolje je celu glavu poslati u laboratoriju ili je otvoriti standardnom metodom (upotrebom električne ili obične testere) i izvaditi ceo mozak, a zatim ga, zajedno sa produženom moždi-

nom poslati na analizu. Da bi se obezbedili uzorci i za histopatološki i imunohistohemijski, ali i za pregled pomoću laboratorijskih testova, potrebno je jednu polovinu mozga odmah staviti u 10% puferizovani formalin, a drugu polovinu poslati u nativnom stanju u laboratoriju.

Od zaklanih i uginulih životinja, kod kojih nisu uočeni klinički simptomi bolesti, uzorkuje se produžena moždina, bez otvaranja lobanje, upotrebom instrumenta u obliku kašike sa oštrim ivicama. Glava se postavlja tako da je ventralni deo donje vilice okrenut naviše, a čeonim delom i dorzalnim delom njuške glava se oslanja o podlogu. Kašika, koja može biti plastična ili metalna, se provlači kroz *foramen magnum* između tvrde moždanice i dorzalnog, odnosno ventralnog dela (zbog položaja glave) produžene moždine i gura se rostralno, pomerajući ulevo i udesno kako bi se presekli kranijalni nervi sa obe strane. Kada je potisnuta dovoljno duboko, kašika se savija na gore i odvaja se produžena moždina od mozga. Instrument se zatim povlači iz lobanje pod uglom, a tkivo se provlači kroz *foramen magnum*.

Uzorkovana produžena moždina se stavlja u bočicu sa poklopcem u kojoj se ne nalazi nikakav fiksativ (formalin i sl.) kako bi se uzorak mogao testirati primenom brzih metoda. Kako ne bi došlo do curenja sadržaja, najbolje je koristiti bočice sa poklopcem na zavrtanje. Bočicu treba obeležiti nalepnicom na koju su ispisani podaci, kao što su datum, identifikacioni broj životinje i redni broj uzorka. Nalepnicu je potrebno zalepiti na samu bočicu, a ne na poklopac. Obeležene bočice se pakuju u transportne kontejnere i u što kraćem roku dostavljaju u laboratoriju. Uputi sa ispisanim podacima se stavljaju u transparentne folije ili se na bilo koji drugi način zaštite od prljanja usled eventualnog curenja sadržaja iz bočica i zajedno sa uzorcima se šalju u laboratoriju. Ukoliko nije moguće odmah transportovati uzorak, on se može čuvati u frižideru na temperaturi 0-8 °C kraći vremenski period. Za duže čuvanje, uzorak je potrebno zamrznuti na temperaturi -18 do -22°C. Međutim, zamrzavanje treba izbegavati kad god je to moguće jer se tom prilikom stvaraju kristali koji otežavaju histopatološku i imunohistohemijsku analizu uzorka.

Greške prilikom uzorkovanja, kao i greške u pakovanju, slanju i obeležavanju uzorkovanog materijala mogu ozbiljno ugroziti verodostojnost rezultata laboratorijske analize. Neprepoznavanje klinički sumnjivih životinja, neprijavlivanje sumnje, kao i neuzorkovanje produženih moždina od svih propisanih kategorija goveda, može ugroziti održavanje dobijenog statusa zemlje u pogledu klasične BSE.

### **Zahvalnica:**

Istraživanje je realizovano prema projektu tehnološkog razvoja TR 31011 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

## LITERATURA

1. *Angers RC, Seward TS, Napier D, Green M, Hoover E, Spraker T et al*, 2009, Chronic wasting disease prions in elk antler velvet, *Emerg Infect Dis*, 15, 696-703.
2. *APHA*, 2017, Clinical signs of bovine spongiform encephalopathy in cattle, <https://science.vla.gov.uk>
3. *Braun U, Gerspach C, Ryhner T, Hauri S*, 2004, Pacing as a clinical sign in cattle with bovine spongiform encephalopathy, *Vet Rec*, 155, 420-22.
4. *Buschmann A, Luhken G, Schultz J, Erhardt G, Groschup MH*, 2004, Neuronal accumulation of abnormal prion protein in sheep carrying a scrapie-resistant genotype (PrPARR/ARR), *J Gen Virol*, 85, 2727-33.
5. *Casalone C, James H*, 2018, Atypical and classic bovine spongiform encephalopathy, *Handbook of clinical neurology*, 153, 121-34.
6. *Chesebro B*, 2003, Introduction to the transmissible spongiform encephalopathies or prion diseases, *Br Med Bull*, 66, 1-20.
7. *Greenlee JJ*, 2019, Review: Update on Classical and Atypical Scrapie in Sheep and Goats, *Vet Pathol*, 56, 6-16.
8. *Greenlee JJ, Greenlee MH*, 2015, The transmissible spongiform encephalopathies of livestock, *ILAR J*, 56, 7-25.
9. *Iulini B, Vallino Costassa E, Corona C, Meloni D, Favole A, Mazza M, Caramelli M, Maurella C, Casalone C*, 2017, Classical and atypical bovine spongiform encephalopathy: epidemiology, pathogenesis and diagnosis, In: *Prion - An Overview*, Intechopen.com
10. *Juling K, Schwarzenbacher H, Williams JL, Fries R*, 2006, A major genetic component of BSE susceptibility, *BMC Biol*, 4, 33.
11. *Juntos P, Zabavnik Piano J, Ambrožič I*, 2017, Prions and animal transmissible spongiform encephalopathies, *Vet glasnik*, 71, 1-15.
12. *Kukolj V, Vučićević I, Atanacković V, Nešić S*, 2012, Postupak uzimanja i slanja materijala za dijagnostiku transmisivnih spongiformnih encefalopatija, *Zbornik predavanja sa 33. seminara inovacija znanja veterinara*, 24, 101-10.
13. *OIE*, 2018, Bovine Spongiform Encephalopathy, *OIE Terrestrial Manual*, Ch. 3.4.5, 1045-57.
14. *Osterholm MT, Anderson CJ, Zabel MD, Scheffel JM, Moore KA, Appleby BS*, 2019, Chronic wasting disease in cervids: implications for prion transmission to humans and other animal species, *mBio*, 10, 608.
15. Pravilnik o utvrđivanju mera ranog otkrivanja i dijagnostike zarazne bolesti transmisivnih spongiformnih encefalopatija, načinu njihovog sprovođenja, kao i merama za sprečavanje širenja, suzbijanje i iskorenjivanje ove zarazne bolesti ("Sl. glasnik RS", br. 96/10 i 54/2019).

### TISSUE SAMPLING FOR TSE DIAGNOSIS IN THE COUNTRY WITH NEGLIGIBLE RISK STATUS

**Vučičević Ivana, Marinković Darko, Kukolj Vladimir, Nešić Slađan, Aničić Milan, Aleksić-Kovačević Sanja**

Transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) are neurodegenerative diseases affecting animals and humans which are characterized by the accumulation of an abnormal form of the prion protein (PrPres) in the brain. The asymptomatic period can last for several years, but the disease is always fatal. Monitoring for TSE involves detection of bovine spongiform encephalopathy (BSE) causing PrPres in cattle, as well as scrapie causing

PrPres in sheep and goats. In most EU countries attention is until recently directed towards the presence of PrPres in cervids and occurrence of chronic wasting disease. There are both classical and atypical BSE and scrapie, whereby the atypical form is thought to occur spontaneously and is not contagious. In accordance with the Terrestrial Code for BSE, there are two categories of BSE risk status. Since the 2019 Republic of Serbia is recognized as having a negligible risk status. In order to maintain the status, the samples from all animal species and categories should be properly sampled and analyzed. The preferred sample should be medulla oblongata at the level of the obex or whole brain from clinically suspected cases. The sampling of medulla oblongata without opening the skull is performed using a specially designed spoon-shaped instrument with sharp edges. The sampling errors, as well as packing, sending and specimen labelling errors can compromise the credibility of the laboratory analysis results.

**Key words:** diagnostics, errors, sampling, TSE

CIP - Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије, Београд

636.09(082)

СЕМИНАР ЗА ИНОВАЦИЈЕ ЗНАЊА ВЕТЕРИНАРА  
(41 ; 2020 ; БЕОГРАД)

Zbornik predavanja XLI Seminara za inovacije znanja veterinarara, Beograd, 2020 / [urednik Lazarević Miodrag]. - Beograd : Fakultet veterinarske medicine, Centar za izdavačku delatnost i promet učila, 2020 (Beograd : Naučna KMD). -

144 str. :

ilustr. ; 24 cm

Na vrhu nasl. str.: Univerzitet u Beogradu. - Tiraž 400. - Bibliografija uz svaki rad.

- Summeries. - Registar.

ISBN 978-86-80446-35-6

а) Ветерина -- Зборници

COBISS.SR-ID 282994956